

Libro Blanco **2017**  
de la  
Anatomía Patológica en España



Libro Blanco

**2017**

de la

Anatomía Patológica en España



Libro Blanco **2017**  
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

4ª edición (2015)  
D.L.: VI-319/2015

5ª edición (2017)  
URL: [www.seap.es/libros-blancos](http://www.seap.es/libros-blancos)  
ISBN 978-84-697-3704-0

Edición con carácter no venal  
© Sociedad Española de Anatomía Patológica  
Gráficas Dosbi, S. L.

## Junta Directiva de la Sociedad Española de Anatomía Patológica

**Presidente:**

Enrique de Álava Casado

**Presidente electo:**

José Palacios Calvo

**Presidente anterior:**

Miguel Ángel Piris Pinilla

**Tesorero:**

Miriam Cuatrecasas Freixas

**Secretario:**

Luis Ortega Medina

**Representante MIR:**

Enrique Rodríguez Zarco

**Vocal de Docencia:**

Aurelio Ariza Fernández

**Vocal de Formación Continuada:**

Julián Sanz Ortega

**Vocal de Comité Científico:**

José Javier Gómez Román

**Vocal de Programa del Control de Calidad:**

Antonio Martínez Pozo

**Vocal de Comunicación y Proyección Social:**

Eduardo Alcaraz Mateos

**Vocal de Ejercicio Libre:**

Agustín Acevedo

**Vocal de Libro Blanco:**

Isabel Guerra Merino

**Vocal de Clubes y Registro:**

Santiago Nieto Llanos

**Vocal Representante de Patólogos  
en Formación:**

Enrique Rodríguez Zarco

**Vocal de Técnicos en Anatomía Patológica:**

José M<sup>a</sup> Corominas

**Vocal de Edición de Revista Española de  
Patología:**

Emilio Mayayo

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

**ANDALUCÍA**

Dolores Bautista Ojeda

**ARAGÓN**

Ramiro Álvarez Alegret

**ASTURIAS**

Aurora Astudillo González

**BALEARES**

Cristina Gómez Bellvert

**CANARIAS**

Willy Pinto Morales

**CANTABRIA**

Teresa Azcarretazabal

**CASTILLA-LA MANCHA**

Rubén Cuesta Domínguez

**CASTILLA Y LEÓN**

José Santos Salas Valián

**CATALUÑA**

Santiago Ramón y Cajal

**EXTREMADURA**

Pedro Pérez Cidoncha

**GALICIA**

M<sup>a</sup> Del Carmen Penin Corderi

**MADRID**

Sagrario García Sánchez

**MURCIA**

Enrique Poblet Martínez

**NAVARRA Y LA RIOJA**

Alicia Córdoba Iturriagoitia

**PAÍS VASCO**

Manuel Manrique Celada

**VALENCIA**

Antonio Ferrández Izquierdo

## Coordinadores de los clubes participantes en esta edición

### **Club de dermatopatología:**

Juan José Ríos Martín  
(jjrios.us.es)

### **Club de linfomas:**

Santiago Montes Moreno  
(smontes@humv.es)

### **Club de nefropatología:**

Rosa María Ortega  
(rosam.ortega.sspa@juntadeandalucia.es)

### **Club de patología digestiva:**

Antonio Ferrández  
(antonio.ferrandez@uv.es)

### **Club de patología endocrina:**

José Manuel Cameselle  
(josemanuel.cameselle@usc.es)

### **Club de patología hepato-biliar**

Beatriz Madrigal Rubiales  
(bmadrigalru@saludcastillayleon.es)

### **Club de patología ocular**

Juan Cuevas Álvarez  
(jbcuevas@hotmail.com)

### **Club de patología de partes blandas y osteoarticular**

Silvia Bagué  
(sbaguer@santpau.es)

### **Club de patología pediátrica**

Daniel Azorín  
(daniel.azorin@salud.madrid.org)

### **Club de patología urológica**

Julían Sanz Ortega  
(jsanzo.hcsc@salud.madrid.org)

### **Club de gestión aplicada y calidad**

Antonio Martínez Lorente  
(amlorente@vinaloposalud.com)



# Índice

<b>PRESENTACIÓN .....</b>	<b>13</b>
<i>Enrique De Álava Casado</i>	
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>15</b>
<i>Isabel Guerra Merino</i>	
<b>1. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE DERMATOPATOLOGÍA.....</b>	<b>17</b>
<i>Juan José Ríos Martín, José Luis Rodríguez Peralto, Ángel Santos-Briz Terrón , María Teresa Fernández-Figueroas , María C. Garrido, Miguel Ángel Idoate Gastearena, Carolina Manzotti, Carlos Monteagudo Castro, Sara Pabón Guerrero, Erica Riveiro-Falkenbach</i>	
• Guía práctica del ganglio centinela en melanoma.....	19
• Nuevas herramientas para el diagnóstico anatomopatológico del melanoma cutáneo.....	27
• Predicción de respuesta a la inmunoterapia en melanoma y otros cánceres cutáneos.....	39
• Lesiones cutáneas asociadas al tratamiento del melanoma metastásico con inhibidores de la mutación del gen BRAF.....	45
• Guía práctica para del carcinoma de células de Merkel .....	57
<b>2. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE LINFOMAS.....</b>	<b>63</b>
Recomendaciones para el estudio histopatológico, inmunohistoquímico, citogenético y molecular e informe diagnóstico de los procesos neoplásicos linfoides. Consenso SEAP-SEHH-GOTEL.....	65
<i>Santiago Montes Moreno, Manuela Mollejo Villanueva, Máximo Fraga, Juan Fernando García, José Luis Villar, Antonio Martínez, Socorro María Rodríguez Pinilla, Empar Mayordomo Aranda, Ana Batlle, Mariano Provencio Pulla, María Rozmán, Ramón García Sanz.</i>	
• Guía general .....	67
• Linfomas B no Hodgkin .....	96
• Linfomas de Hodgkin .....	141
• Linfomas T y T/NK .....	145
• Linfomas primariamente cutáneos .....	163
• Neoplasias de células histiocíticas y de células dendríticas.....	171
<b>3. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE NEFROPATOLOGÍA.....</b>	<b>175</b>
<i>Rosa Ortega Salas, Eduardo Vázquez Martul, Pablo Cannata, Miguel Ángel Martínez González, Josep Lloreta Trull, Esther Roselló-Sastre, Jerónimo Forteza, Dolores López Álvarez</i>	
• Anatomía Patológica y Nefrología .....	177
• Manejo de la biopsia renal y técnicas diagnósticas en nefropatología .....	181
• Estudio Ultraestructural en la biopsia renal .....	195
• Interés de los estudios moleculares en patología renal .....	199
• La biopsia en el trasplante renal .....	203

<b>4. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DIGESTIVA.....</b>	<b>213</b>
<i>Antonio Ferrández Izquierdo, Mar Iglesias, Josep Antoni Bombí, Elvira González Obeso, Ángel Concha María del Carmen Gómez Mateo, Nuria Baixeras, Miriam Cuatrecasas, Rebeca Fernández Victoria, M<sup>a</sup> Jesús Fernández-Aceñero, Carme Ferrer, Stefania Landolfi, Beatriz Madrigal Rubiales Carolina Martínez Ciarpaglini, Eva Musulén, Ruth Orellana, Luís Ortega, M José Paules, Jorge Pombo, , Socorro Razquin, María Eugenia Semidey, Teresa Serrano Piñol, Justyna Szafranska, Jordi Tarragona, Alberto Veiga.</i>	
• Informes protocolizados de las piezas neoplásicas de esófago .....	215
• Informes protocolizados de las piezas neoplásicas de estómago .....	221
• Diagnóstico de los pólipos de colon resecaados mediante polipectomía endoscópica y actitud terapéutica .....	229
• Recomendaciones para el diagnóstico anatomopatológico del cáncer de colon.....	241
• Tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos .....	267
• Piezas quirúrgicas por adenocarcinoma ductal y neoplasias mucinosas papilares intraductales de páncreas .....	283
<b>5. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA ENDOCRINA.....</b>	<b>301</b>
<i>José Manuel Cameselle-Teijeiro, María Rosa Bella Cueto, Óscar Toldos González , Aurelio Hernández Laín, Andrés Pérez Barrios</i>	
• Tumores primarios de la glándula suprarrenal y síndromes hereditarios asociados.....	303
• Patología de la hipófisis.....	317
<b>6. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA HEPATOBILIAR .....</b>	<b>327</b>
<i>Beatriz Madrigal Rubiales, Carolina Ibarrola Yolanda Rodríguez Gil, Carlos Zac Romero, Judith Pérez Rojas, María Josefina Artes Martínez, Francisco Colina Ruiz-Delgado , M<sup>a</sup> Guadalupe López-Alonso, Mercedes Pérez Carreras, Mireya Prieto Rodríguez, Javier Salamanca Santamaría, Ángeles Torres Nieto, Francisco Vera Sempere.</i>	
• Biopsia hepática en patología no tumoral. ....	329
• Colangiopatías.....	341
• Biopsias hepáticas con sospecha de esteatohepatitis .....	351
• Estudio macroscópico y microscópico de las piezas de hepatectomía .....	365
• Tres lesiones nodulares hepáticas. ....	375
<b>7. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA OCULAR.....</b>	<b>397</b>
<i>José Carlos López , Juan Cuevas Álvarez.</i>	
• Melanoma uveal.....	399
• Retinoblastoma .....	405
• Tumores y lesiones preneoplásicas conjuntivales .....	411
<b>8. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DE PARTES BLANDAS Y OSTEOARTICULAR .....</b>	<b>419</b>
<i>Sílvia Bagué, Isidro Machado, Aurora Astudillo, Julia Cruz, David Marcilla, José Juan Pozo, Juan C. Tardío.</i>	
• Protocolo de los tumores de partes blandas malignos y de comportamiento intermedio de adolescentes y adultos .....	421
• Protocolo para el estudio de muestras y estandarización del informe patológico de tumores óseos .....	429

<b>9. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA PEDIÁTRICA .....</b>	<b>443</b>
<i>Daniel Azorín, Alfons Nadal, Joan Carles Ferreres, Patricia Gómez Iglesias, Yolanda Rodríguez Gil, Cristina Jou Muñoz, Inmaculada de Prada, Carlota Rovira,, Silvia Planas, Marina Alonso, Jessica Camacho, Francisco Colina Ruiz Marta Garrido, Enrique Medina, Alexandra Navarro</i>	
• Guía diagnóstica para cardiopatías congénitas.....	445
• Biopsia pulmonar pediátrica .....	453
• Enfermedad celiaca .....	463
• Enfermedad de Hirschsprung .....	469
• Enfermedad inflamatoria intestinal idiopática .....	475
• Enfermedades metabólicas de la infancia.....	497
• Patología de la Epilepsia: Displasia cortical focal.....	513
• Examen histopatológico de la placenta .....	519
<b>10. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA UROLÓGICA .....</b>	<b>533</b>
<i>Julián Sanz Ortega, Ainara Azueta, Pilar González-Peramato, Ferrán Algaba, Isabel Trías, Pilar Gallel, M<sup>a</sup> Isabel Hierro, Inés de Torres, Rafael J. Luque Barona, Patricia Antúnez, Eugenia García Fernández, David Ramos, Rocío Solórzano Mariscal.</i>	
• Protocolos de las piezas de nefrectomía.....	537
• Protocolos de vía urinaria .....	543
• Recomendaciones en cáncer de próstata.....	551
• Guía de manejo de muestras de patología neoplásica del pene .....	595
• Protocolos de muestras de testículo.....	603
<b>11. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE GESTIÓN APLICADA Y CALIDAD .....</b>	<b>621</b>
Directrices para la estimación de la carga de trabajo en citopatología e histopatología (tiempo médico) atendiendo al catálogo de muestras y procedimientos de la SEAP-IAP. (2ª edición) .....	
	623
<i>Antonio Martínez Lorente, Francesc Alameda Quitllet, Ramiro Álvarez Alegret, Miguel Ángel Carrasco García, Antonio Cremades Mira, Enrique De Álava Casado, Inés De Torres Ramírez, Purificación Domínguez Franjo, Rafael Durán García, Raimundo García del Moral, Marcial García Rojo, Sagrario García Sánchez, Rosario Granados Carreño, Isabel Guerra Merino, Pilar Martínez Onsurbe, José Luis Mate Sanz, Fernando Pinedo, Teresa Ribas Ariño, Esther Roselló Sastre, Iruñe Ruiz Díaz, Isabel Salas Villar, Matilde Sánchez del Charco, Ángeles Torres Nieto, Esther Sanfeliu Torres, Blanca Vicandi Plaza, M<sup>a</sup> Dolores Vélez Velázquez</i>	
• Introducción, objetivos y directrices métodos de trabajo.....	625
• Catálogo de muestras y procedimientos de Anatomía Patológica .....	627
• Análisis prospectivo de la carga de trabajo asistencial. Carga de trabajo asociada a la actividad pre-analítica, analítica y post-analítica contemplando el tiempo médico. Adaptación a la norma UNE-EN-ISO 15189. ....	627
• Cálculo de la carga de trabajo en citopatología e histopatología contemplando el tiempo médico.....	629
• Distribución de la carga de trabajo en histopatología.....	629
• Distribución de la carga de trabajo en citopatología .....	630
• Distribución de la carga de trabajo en patología autopsica .....	630
• Anexos 1: Distribución de la carga de trabajo para histopatología.....	632
• Anexo 2: Distribución de la carga de trabajo para citopatología.....	654
• Anexo 3: Distribución de la carga de trabajo para patología autopsica.....	663



# Presentación

**Enrique de Álava**

*Presidente SEAP-IAP*

Creo que una de las funciones más relevantes de una sociedad científica en nuestros días es la de consensuar y poner por escrito sus procedimientos de trabajo de la manera más objetiva e independiente posible. Por una parte, esto ayuda a organizar y a hacer más eficiente el trabajo cotidiano de sus socios. Por otra parte, de cara al exterior, le ayuda a ser una sociedad respetada y creíble ante otras sociedades científicas, las asociaciones de pacientes, y las administraciones (públicas o privadas).

La Sociedad Española de Anatomía Patológica-IAP lleva varias décadas poniendo de manifiesto el papel central de la Anatomía Patológica en la Medicina actual a través de diversos documentos y publicaciones. Éstos se compilaron por primera vez en forma de Libro Blanco en 1997. Desde 2009, con el liderazgo de José Antonio Giménez Más, y, a continuación, con el de Isabel Guerra se han ido sucediendo ediciones bienales del Libro Blanco de la Anatomía Patológica. Desde entonces, se ha constituido en una referencia para nuestra Sociedad.

Durante este último bienio hemos sido más conscientes del impacto de las variables preanalíticas sobre nuestra actividad, y por ello el lector encontrará un apartado de preanalítica en la mayor parte de los capítulos del Libro Blanco.

Quiero hacer mención especial a las nuevas Directrices para la estimación de la carga de trabajo en citopatología e histopatología (tiempo médico), atendiendo al catálogo de muestras y procedimientos de la SEAP-IAP, en su segunda edición. Un grupo de trabajo, liderado por Antonio Martínez Lorente, ha abordado el complejo tema de la distribución de la carga de trabajo. Este es un aspecto clave porque, como se reconoce en el capítulo, debemos mantener unos tiempos de respuesta adecuados; sin embargo, esto requiere calcular la dotación de personal necesaria para la carga de trabajo, teniendo en cuenta el incremento en la cartera de servicios y la escasez de profesionales con que contamos.

En esta ocasión, y por primera vez, de acuerdo con el desarrollo actual de las tecnologías de la información, el Libro Blanco no va a ser un libro físico y tangible, sino un documento electrónico; lo encontraremos siempre en un espacio específico en nuestra página web [www.seap.es](http://www.seap.es). Creo que estas tecnologías contribuirán a extender su impacto también entre los profesionales y la población de los países hermanos de América Latina.

Por último, deseo mostrar mi agradecimiento y reconocimiento a Isabel Guerra y a los autores de los capítulos de la presente edición del Libro Blanco por el trabajo realizado. Estoy seguro de que, gracias a ellos, el Libro Blanco de la Anatomía Patológica seguirá siendo una herramienta útil para prestar un mejor servicio a nuestros pacientes.



# Introducción

**Isabel Guerra Merino**

*Coordinadora de la edición*

El Libro Blanco de la Anatomía Patológica es un documento vivo que se renueva periódicamente gracias a la contribución de los miembros de nuestra sociedad, que comparten su vasta experiencia por escrito con otros patólogos.

Como en la edición anterior, el libro se organiza en torno a las recomendaciones de los clubes. Han participado clubes que no lo habían hecho hasta ahora y han completado o actualizado sus guías otros que en 2015 ya lo hicieron.

Nos encontramos en esta ocasión con nuevos capítulos en torno a patologías tumorales, basados algunos en las nuevas clasificaciones de la OMS y TNM. En todos ellos se ha utilizado un formato común que incluye, entre otros apartados, la macroscopía, las técnicas inmunohistoquímicas y moleculares de rutina, el estadio y los datos imprescindibles para un informe completo, fundamental para el diagnóstico correcto del paciente oncológico.

Por otra parte se han publicado guías de patologías no tumorales del máximo interés, como la de nefropatología, la de patología hepática y las guías de diferentes entidades de patología pediátrica.

No obstante, uno de los capítulos más consultados en las últimas ediciones ha resultado ser el catálogo de muestras y procedimientos, con la estimación de la carga laboral. Por ello, después de seis años se publica una nueva versión, para que sirva de apoyo a la organización de los servicios y a la gestión tanto dentro como fuera de las unidades, así como en la relación con las direcciones de los hospitales.

A partir de ahora El Libro Blanco va a estar presente en dos formatos en la web de la SEAP: tanto como libro electrónico, como en el apartado de Publicaciones/Protocolos/Recomendaciones de los clubes, donde se encontrarán siempre las guías actualizadas correspondientes a la temática del club, para poder acceder de forma directa a los protocolos de trabajo.

Así pues, el Libro Blanco va cambiando, adaptando su formato y contenidos para mantenerse como una guía actualizada, y en último término, útil a sus usuarios. Por ello, esperamos que siga resultando un documento de consulta diaria en nuestros centros, al tiempo que base para el debate, de cara a futuras ediciones.





# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE DERMATOPATOLOGÍA DE LA SEAP

*Coordinador: Juan José Ríos Martín ([jjrios.us.es](mailto:jjrios.us.es))*



# Guía práctica para el procesamiento y la interpretación histológica del ganglio centinela en melanoma.

Angel Santos-Briz Terron<sup>1</sup>, Juan Jose Rios Martin<sup>2</sup>, Maria Teresa Fernandez-Figueras<sup>3</sup>, José Luis Rodriguez Peralto<sup>4</sup>.

1 *Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca*

2 *Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla*

3 *Hospital General de Cataluña, Barcelona*

4 *Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid*

## I. INTRODUCCIÓN

A pesar de que en pacientes con melanoma la biopsia selectiva de ganglio centinela (BSGC) se considera actualmente una técnica de rutina en la mayoría de centros hospitalarios, y es una parte esencial en el proceso de estadificación de la enfermedad, no existen recomendaciones universalmente aceptadas sobre la forma de procesar el ganglio, las técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas a emplear, y la manera de emitir los informes anatomopatológicos. Esta situación puede dar lugar a que los resultados obtenidos en diferentes centros sean heterogéneos y con ello la actitud terapéutica hacia los pacientes. Por eso creemos que es necesario redactar un documento de consenso que permita homogeneizar el procesamiento de la BSGC en melanoma en los servicios de Anatomía Patológica españoles. El objetivo de esta guía no es establecer un método para estudiar el ganglio centinela, que deberá ser seleccionado en cada centro, sino definir los mínimos requisitos para garantizar la máxima reproducibilidad de resultados entre los diferentes centros de una forma eficiente.

## II. ¿QUÉ ES LA BIOPSIA SELECTIVA DE GANGLIO CENTINELA?

Se define como ganglio centinela al primer ganglio de una cadena linfática que drena un territorio tisular determinado. Por tanto es el primer ganglio linfático que encuentran las células tumorales al intentar diseminarse a través de la linfa.

La técnica de BSGC, introducida por Morton a principios de la década de 1990, es el procedimiento de elección para la estadificación ganglionar del melanoma, y permite seleccionar un subgrupo de pacientes en los que la linfadenectomía no aporta ningún beneficio adicional<sup>1, 2</sup>. Actualmente se considera una téc-

nica rutinaria en la mayoría de los centros y recientemente se ha propuesto como un indicador de calidad hospitalaria<sup>3</sup>.

### III. ¿PARA QUÉ SIRVE LA BSGC EN PACIENTES CON MELANOMA?

Es indudable que la BSGC es una herramienta imprescindible para estadificar y establecer el pronóstico de los melanomas. Según las clasificaciones del AJCC de 2001, 2009 y 2017<sup>4,5,6\*</sup> se acepta que para tumores primarios, el grosor tumoral y la detección de metástasis en el ganglio centinela son los factores pronósticos más importantes del melanoma.

### IV. ¿TIENE LA BSGC UNA UTILIDAD TERAPÉUTICA EN PACIENTES CON MELANOMA?

Actualmente no hay una evidencia indiscutible de que la realización de la BSGC suponga un beneficio terapéutico en los pacientes con melanoma. Recientemente el ensayo en fase 3 del grupo MSLT ha demostrado que la realización de la técnica no produce diferencias en la tasa de supervivencia específica tras 10 años de seguimiento, aunque es posible que sea beneficiosa en un subgrupo de pacientes con ganglios positivos y grosor tumoral intermedio<sup>7</sup>.

### V. ¿EN QUÉ PACIENTES ESTÁ INDICADA LA BSGC?

A pesar de que las indicaciones de la BSGC en melanoma son cambiantes, actualmente en general las guías internacionales recomiendan realizarla en melanoma cutáneo localizado con un índice de Breslow de entre 1 y 4 mm en pacientes sin adenopatías palpables o con adenopatía palpable con estudio citológico negativo mediante PAAF<sup>8</sup>.

En melanomas de menos de 1 mm no existe un consenso aceptado sobre la realización de BSGC, y menos ahora, con la reciente incorporación de la octava edición de la clasificación de la AJCC de 2017.

Hasta la fecha actual, basándose en la clasificación AJCC de 2009, la guía NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology de 2015<sup>8</sup> indicaba que se debe ofrecer al paciente con melanoma la opción de la BSGC con tumores en estadio pT1b (<1mm con ulceración o presencia de mitosis) de >0.76mm. Según esta guía, no se recomienda realizar la técnica en melanomas de menos de 0.75mm salvo cuando existan características de riesgo (ulceración, actividad mitótica, edad joven o invasión linfovascular). En estos casos, al igual que en melanomas con un grosor de entre 0.76 y 1 mm sin ulceración ni mitosis (estadio pT1a de la clasificación 2009), la decisión de realizar la técnica ha de tomarse en el seno de un comité multidisciplinar, de acuerdo con la voluntad del paciente, teniendo en cuenta su edad y posibles comorbilidades. Con la nueva clasificación TNM es necesario redefinir las indicaciones.

Por otro lado cada vez existe más evidencia de que en melanomas gruesos de más de 4 mm, su realización es útil con fines pronósticos, a pesar de que estos pacientes ya tienen un riesgo elevado de progresión de la enfermedad. En ningún caso se recomienda su realización en pacientes con melanoma *in situ*<sup>9</sup>.

### VI. ¿HAY QUE UTILIZAR INMUNOHISTOQUÍMICA EN MELANOMAS PRIMARIOS PARA CONTAR MITOSIS CON EL FIN DE ESTADIFICAR EL TUMOR?

Desde hace años se conoce el valor pronóstico de la actividad mitótica en el melanoma<sup>5,10</sup>. Aunque actualmente el sistema de clasificación de la AJCC de 2017 no considera la presencia de mitosis como factor para la estadificación TNM, hasta 2016, el anterior sistema de estadificación de 2009 establecía que la existencia de una sola figura mitótica en melanomas de menos de 1mm de espesor de Breslow no ulcerados cambiaba el estadio de pT1a a pT1b<sup>5</sup>. Esto suponía un cambio en el grupo pronóstico de la lesión y en la actitud terapéutica, con posibilidad de ofertar BSGC. Actualmente existen anticuerpos inmunohistoquímicos que marcan figuras mitóticas, como MPM-2 y la fosfohistona 3<sup>11</sup>. Se emplean en algunos centros con el fin de

contar mitosis de una forma más precisa y más rápida, ya que gracias a su especificidad, no tiñen cuerpos apoptóticos. Es importante saber que la clasificación TNM de melanoma de AJCC 2009 se basaba en estudios en los que el índice mitótico se determinó empleando secciones teñidas con hematoxilina y eosina<sup>5</sup>. Por tanto no es recomendable emplear técnicas inmunohistoquímicas para analizar el índice mitótico de los melanomas finos. Además recientemente se ha comprobado que el empleo de esos anticuerpos además de ser caro no ahorra tanto tiempo como se suponía<sup>12</sup>.

### **VII. ¿LA BSGC EN MELANOMA: EN CONGELACIÓN O EN DIFERIDO?**

Como se expondrá a continuación, dado que la existencia de que una sola célula tumoral metastásica en el ganglio centinela cambia el estadio y la actitud terapéutica de la enfermedad, necesitamos alta sensibilidad del método de detección de las células tumorales. Por eso el estudio de la BSGC de pacientes con melanoma ha de realizarse en material procesado de rutina (fijado en formol e incluido en parafina) que permita la posterior realización de técnicas inmunohistoquímicas descartando el empleo de secciones en congelación (biopsia intraoperatoria)

### **VIII. ¿CÓMO HAY QUE PREPARAR MACROSCÓPICAMENTE EL GANGLIO CENTINELA? (¿CÓMO SE TALLA?)**

A pesar de que no existen recomendaciones generalmente aceptadas sobre cómo tallar el ganglio centinela, hay dos maneras diferentes de hacerlo. Cochran propone cortar el ganglio en forma bivalva a través del hilio<sup>13</sup>. Esta técnica tiene la ventaja de que permite estudiar los vasos linfáticos aferentes; sin embargo encontrar el hilio ganglionar puede ser complicado y más si el tallado lo realizan patólogos o técnicos sin experiencia. Por otro lado Prieto y cols recomiendan realizar secciones transversales del ganglio para poder estudiar la mayor superficie de región subcapsular<sup>14</sup>. Nosotros recomendamos esta técnica, incluyendo en parafina la totalidad del ganglio en cortes transversales en al menos cuatro rodajas (dependiendo siempre de su tamaño) tal y como lo sugiere la Unidad de Melanoma de Sidney<sup>15</sup>.

### **IX. ¿CÓMO PROCESAR HISTOLÓGICAMENTE EL GANGLIO CENTINELA?**

A fecha actual no hay un consenso universalmente aceptado para el procesamiento histológico de la BSGC en melanoma. Sabemos que aproximadamente el 80% de los ganglios centinelas positivos se detectan fácilmente con un corte de hematoxilina-eosina, pero que para el restante 20% es necesario realizar cortes seriados o estudio inmunohistoquímico, técnicas que aumentan la detección de células tumorales hasta en un 40%<sup>16,17</sup>.

Hay métodos como el recomendado por el grupo de melanoma de la EORTC que sugieren el estudio histológico de todo el ganglio mediante secciones seriadas y tinciones con HE e inmunohistoquímica cada 50 micras hasta agotar el ganglio. Este método, realizado en un escaso número de centros, supone la utilización de gran cantidad de recursos económicos y humanos, y no garantiza la identificación de todas las células tumorales. En el año 2015, Martínez-Menchón y colaboradores realizaron un estudio económico del coste de la BSGC en melanoma y demostraron que el precio total de este tipo de protocolos es cercano a 10.000 €, siendo una parte muy importante del mismo atribuible al procesamiento histopatológico (5.769,36 €)<sup>18</sup>.

Entre los extremos de analizar sólo una sección con HE y la alternativa prohibitiva de estudiar la totalidad del ganglio existen soluciones intermedias, asumibles en los servicios hospitalarios. La recomendación de esta guía es que como poco se emplee el protocolo descrito por Scolyer y cols, utilizado en la Unidad de Melanoma de Sidney<sup>15</sup>, y que ha sido recomendado también por la Sociedad Alemana de Dermatología<sup>19</sup>. Consiste en incluir, siempre que el tamaño del ganglio lo permita, al menos 4 rodajas del ganglio y realizar al menos 4 cortes histológicos de las mismas. El primero y el último se tiñen con HE y los cortes intermedios se reservan para el estudio inmunohistoquímico.

## **X. ¿QUÉ ANTICUERPOS INMUNOHISTOQUÍMICOS HAN DE EMPLEARSE PARA EL ESTUDIO DE LA BSGC EN MELANOMA?**

Dado que la guía actual de la AJCC establece que la presencia de una sola célula tumoral es suficiente para considerar un ganglio centinela como positivo y para incluir el melanoma en el estadio III, es indudable que el estudio de la BSGC sólo con HE es insuficiente y que es imprescindible realizar técnicas inmunohistoquímicas.

De todos los anticuerpos el más sensible para melanoma es la proteína S100 con una sensibilidad del 93-100%. Tiene la ventaja de que es un anticuerpo de uso muy extendido en los laboratorios de anatomía patológica y que conocen bien los patólogos pero el inconveniente de que es poco específico y marca también las células dendríticas de los ganglios linfáticos<sup>20</sup>. Por eso es imprescindible emplearla en conjunción con otros anticuerpos. De todos, el más recomendable para el ganglio centinela es el cóctel de melanoma, una mezcla de diferentes anticuerpos, generalmente HMB-45, melan-A y antitirosinasa que presenta mayor sensibilidad que los tres por separado. Como alternativa puede usarse melan-A. Por último, puede ser recomendable el estudio de HMB45 por separado, útil en el diagnóstico de nevus capsulares. El Sox-10, un factor de transcripción involucrado en formación de melanocitos es un marcador muy sensible para neoplasias melanocíticas benignas y malignas con patrón de tinción nuclear. Es un buen anticuerpo para el estudio de BSGC pero su uso no está todavía extendido en los laboratorios de Anatomía patológica.

Por tanto, el protocolo mínimo recomendado en esta guía sería el realizar al menos cuatro secciones del ganglio centinela tras su tallado en finas rodajas perpendiculares al eje mayor. La primera y la última se teñirán con HE y las intermedias con marcadores inmunohistoquímicos, preferentemente proteína S-100 y cóctel de melanoma.

A partir de este protocolo mínimo lógicamente la realización de más secciones aumentará la probabilidad de detectar focos metastásicos.

## **XI. ¿ES CONVENIENTE UTILIZAR EL CONCEPTO DE MICROMETÁSTASIS EN BSGC DE MELANOMA?**

Hasta el momento no existe un umbral inferior en la carga metastásica nodal, de forma que la clasificación AJCC establece que la presencia de una sola célula tumoral en el ganglio centinela supone que el ganglio es positivo y un estadio III de la enfermedad<sup>5</sup>. Esto condiciona además un cambio en la actitud terapéutica, aunque posiblemente la linfadenectomía radical en estos casos no sea necesaria, al ser muy poco frecuente que haya afectación neoplásica de otros ganglios. Por eso el concepto de micrometástasis puede ser confuso y no conviene emplearlo a diferencia de otras neoplasias como el carcinoma de mama.

## **XII. ¿CÓMO INFORMAR LA BSGC DE MELANOMA?**

El informe anatomopatológico de la BSGC deben incluir los siguientes datos:

- Número de ganglios centinelas recibidos y tamaño.
- Número de ganglios afectados por el tumor.
- Localización (subcapsular, parenquimatosa o mixta).
- Extensión de la lesión tumoral
- Presencia o ausencia de extensión extracapsular.

La extensión del foco tumoral en el ganglio centinela puede expresarse de dos maneras. La clasificación propuesta por Starz y cols se basa en dos datos: el número de secciones de 1 mm que muestran células tumorales y la penetración en profundidad del tumor medida desde el margen capsular interno del ganglio linfático (análogo a la medición del espesor de Breslow en el tumor primario)<sup>21</sup>. Aunque hay evidencia demostrada del valor pronóstico esta clasificación, este método requiere la sección histológica entera del ganglio. Una versión revisada de este método sólo incluye la profundidad de penetración del tumor<sup>22</sup>. La clasificación de Rotterdam mide el diámetro máximo del foco tumoral de mayor tamaño en el ganglio linfático en décimas de milímetro<sup>23</sup> clasificando las metástasis en tres categorías (0,1 mm, 0,1-1 mm y 1 mm). Este método

también ha demostrado tener valor pronóstico. Actualmente no hay datos validados que muestren cuál de estos dos sistemas de clasificación es mejor. En la presente revisión se recomienda utilizar la clasificación de Rotterdam al ser un sistema más sencillo y reproducible.

### **XIII. ¿CÓMO ENFRENTARNOS A LOS NEVUS MELANOCÍTICOS GANGLIONARES?**

Se ha descrito que hasta un 22% de las piezas de linfadenectomía pueden presentar nevus capsulares<sup>24</sup>. Existen dos teorías sobre la aparición de estas lesiones: la migración embrionaria aberrante de células melanocíticas y mucho más probable, la diseminación de células névicas por vía linfática de nevus melanocíticos<sup>25</sup>. A pesar de que diferenciar un nevus de una metástasis de melanoma por lo general no es complicado, pueden existir casos en los que el diagnóstico diferencial sea difícil. En estos casos se recomienda:

1. Valorar las características citológicas y la localización de la lesión: los nevus melanocíticos muestran células sin atipia de localización generalmente intracapsular (aunque puede existir extensión intraparenquimatosa). En cambio las metástasis de melanoma presentan mayor grado de atipia y es raro encontrarlo en el seno de la cápsula ganglionar fuera de vasos linfáticos<sup>26</sup>.
2. Comparar las características citológicas de la lesión ganglionar con el tumor primario.
3. Realizar estudio inmunohistoquímico, en el que pueden ayudar anticuerpos como HMB-45 (negativo por lo general en nevus capsulares), p16 (marcador nuclear de senescencia positivo en nevus) y Ki-67 (más elevado en melanoma)<sup>27</sup>.

### **XIV. ¿POR QUÉ NO HAY UN “OSNA” PARA LA BSGC DE MELANOMA?**

La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, del inglés reverse transcription polymerase chain reaction) es una técnica empleada en muchos centros para la determinación de metástasis en BSGC de otras neoplasias como el cáncer de mama. En melanoma existen diferentes estudios que han demostrado una mayor sensibilidad que la técnica histológica convencional. Se basa en la detección de mRNA de diferentes marcadores expresados por las células tumorales<sup>28</sup>. El problema de esta técnica es que a pesar de que puede mostrar mayor sensibilidad que la técnica histológica convencional, puede producir falsos positivos, fundamentalmente por la existencia de células melanocíticas benignas en los ganglios linfáticos (nevus capsulares) y por la existencia de macrófagos que han viajado al ganglio linfático después de fagocitar restos de células tumorales de melanoma. En el momento actual esta técnica no se emplea de rutina fuera de estudios de investigación. La guía AJCC establece que es necesario realizar más estudios con seguimiento clínico antes de recomendar la realización de esta técnica en pacientes con melanoma<sup>5</sup>.

### **Bibliografía**

1. Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127:392–9.
2. Madu MF, Wouters MW, van Akkooi AC. Sentinel node biopsy in melanoma: Current controversies addressed. *Eur J Surg Oncol*. 2016 Aug [Epub ahead of print]
3. Kinnier CV, Paruch JL, Dahlke AR, Wayne JD, Benson AB 3rd, Winchester DP, Bilimoria KY. Adjusted Hospital Sentinel Lymph Node Positivity Rates in Melanoma: A Novel Potential Measure of Quality. *Ann Surg*. 2016;263:392-8.
4. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A, Jr., Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA,

- Thompson JF. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3635–48.
5. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, Buzaid AC, Cochran AJ, Coit DG, Ding S, Eggermont AM, Flaherty KT, Gimotty PA, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MC, Jr, Morton DL, Ross MI, Sober AJ, Sondak VK. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009; 27: 6199–206.
  6. AJCC Cancer Staging Manual. Eighth edition. Ed. Amin, M.B., Edge, S., Greene, F. et al. Springer. 2017
  7. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Puleo CA, Coventry BJ, Kashani-Sabet M, Smithers BM, Paul E, Kraybill WG, McKinnon JG, Wang HJ, Elashoff R, Faries MB; MSLT Group. Final trial report of sentinel-node biopsy versus nodal observation in melanoma. *N Engl J Med*. 2014 13;370:599-609.
  8. Guía NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/melanoma.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/melanoma.pdf)
  9. Gyorki DE, Sanelli A, Herschtal A, Lazarakis S, McArthur GA, Speakman D, Spillane J, Henderson MA. Sentinel Lymph Node Biopsy in T4 Melanoma: An Important Risk-Stratification Tool. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:579-84.
  10. Nagore E, Oliver V, Botella-Estrada R, Moreno-Picot S, Insa A, Fortea JM. Prognostic factors in localized invasive cutaneous melanoma: high value of mitotic rate, vascular invasion and microscopic satellitosis. *Melanoma Res* 2005; 15: 169–77.
  11. Tapia C, Kutzner H, Mentzel T, Savic S, Baumhoer D, Glatz K. Two mitosis-specific antibodies, MPM-2 and phospho-histone H3 (Ser28), allow rapid and precise determination of mitotic activity. *Am J Surg Pathol*. 2006;30:83-9.
  12. Ottmann K, Tronnier M, Mitteldorf C. Detection of mitotic figures in thin melanomas--immunohistochemistry does not replace the careful search for mitotic figures in hematoxylin-eosin stain. *J Am Acad Dermatol*. 2015;73:637-44.
  13. Cochran AJ. Surgical pathology remains pivotal in the evaluation of 'sentinel' lymph nodes. *Am J Surg-Pathol*. 1999;23:1169–1172.
  14. Prieto VG. Sentinel lymph nodes in cutaneous melanoma: handling, examination, and clinical repercussion. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134:1764-9.
  15. Scolyer RA, Murali R, Satzgerl, Thompson JF. The detection and significance of melanoma micrometastases in sentinel nodes. *Surg Oncol* 2008;17: 165–74.
  16. Prieto VG, Clark SH. Processing of sentinel lymph nodes for detection of metastatic melanoma. *Ann DiagnPathol*. 2002;6:257–264.
  17. Chakera AH, Hesse B, Burak Z, y cols. EANM-EORTC general recommendations for sentinel node diagnostics in melanoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36: 1713–42.



18. Martínez-Menchón T, Sánchez-Pedreño P, Martínez-Escribano J, Corbalán-Vélez R, Martínez-Barba E. Cost analysis of sentinel lymph node biopsy in melanoma. *Actas Dermosifiliogr.* 2015;106:201-7.
19. Garbe C, Eigentler TK, Bauer J, Blödorn-Schlicht N, Fend F, Hantschke M, Kurschat P, Kutzner H, Metze D, Pressler H, Reusch M, Röcken M, Stadler R, Tronnier M, Yazdi A, Metzler G. Histopathological diagnostics of malignant melanoma in accordance with the recent AJCC classification 2009: Review of the literature and recommendations for general practice. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9:690-9
20. Karimipour DJ, Lowe L, Su L, Hamilton T, Sondak V, Johnson TM, Fullen D. Standard immunostains for melanoma in sentinel lymph node specimens: which ones are most useful? *J Am Acad Dermatol* 2004; 50: 759–64.
21. Starz H, Balda BR, Kramer KU, Buchels H, Wang H. A micromorphometry based concept for routine classification of sentinel lymph node metastases and its clinical relevance for patients with melanoma. *Cancer* 2001; 91: 2110–21.
22. Starz H, Siedlecki K, Balda BR. Sentinel lymphadenectomy and s-classification: a successful strategy for better prediction and improvement of outcome of melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 162S–8S.
23. Van Akkooi AC, Nowecki ZI, Voit C, Schafer-Hesterberg G, Michej W, de Wilt JH, Rutkowski P, Verhoef C, Eggermont AM. Sentinel node tumor burden according to the Rotterdam criteria is the most important prognostic factor for survival in melanoma patients: a multicenter study in 388 patients with positive sentinel nodes. *Ann Surg* 2008; 248: 949–55.
24. Fontaine D, Parkhill W, Greer W, et al. Nevus cells in lymph nodes: an association with congenital cutaneous nevi. *Am J Dermatopathol.*2002;24:1–5.
25. W.T. Johnson, E.B. Helwig, Benign nevus cell in the capsule of lymph nodes. *Cancer* 23 (1969) 747–753.
26. Biddle DA, Evans HL, Kemp BL, El-Naggar AK, Harvell JD, White WL, Iskandar SS, Prieto VG. Intraparenchymal nevus cell aggregates in lymph nodes: a possible diagnostic pitfall with malignant melanoma and carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2003 ;27:673-81
27. Piana S, Tagliavini E, Ragazzi M, Zanelli M, Zalaudek I, Ciarrocchi A, Valli R. Lymph node melanocytic nevi: pathogenesis and differential diagnoses, with special reference to p16 reactivity. *Pathol Res Pract.* 2015 May;211:381-8
28. Hilari JM, Mangas C, Xi L, Paradelo C, Ferrandiz C, Hughes SJ, Yueh C, Altomare I, Gooding WE, Godfrey TE. Molecular staging of pathologically negative sentinel lymph nodes from melanoma patients using multimer, quantitative real-time RT-PCR. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 177–85.



# Nuevas herramientas para el diagnóstico anatomopatológico del melanoma cutáneo

Erica Riveiro-Falkenbach<sup>1</sup>, María C. Garrido<sup>1</sup>, Juan J. Ríos-Martín<sup>2</sup>, Ángel Santos-Briz Terrón<sup>3</sup> y José L. Rodríguez-Peralto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid;

<sup>2</sup>Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla;

<sup>3</sup>Hospital Universitario de Salamanca.

## I. INTRODUCCIÓN

El melanoma es un tumor complejo, de difícil manejo diagnóstico por su variada presentación histológica, siendo considerado por expertos patólogos como “el gran simulador”. Además, es uno de los cánceres con mayor número de alteraciones genéticas y epigenéticas descritas <sup>1,2</sup>.

La mayoría de los melanomas pueden ser diagnosticados por sus características histológicas clásicas, como la presencia de asimetría tumoral, pérdida de maduración en profundidad, alta celularidad, atipia citológica, presencia de mitosis y extensión pagetoide de las células melanocíticas a la epidermis. No obstante, los tumores melanocíticos pueden presentar alteraciones morfológicas limítrofes que dificultan su diagnóstico histológico. Como ejemplo de tumores de difícil diagnóstico en la práctica clínica están las proliferaciones spitzoides atípicas, las proliferaciones melanocíticas fusiformes, los melanomas nevoides y los nódulos proliferativos en los nevos congénitos <sup>3</sup>.

Los recientes avances en la patogénesis molecular de las proliferaciones melanocíticas han revelado diferencias genéticas muy llamativas entre nevos y melanomas. La mayoría de los nevos benignos son originados por mutaciones puntuales en determinados oncogenes sin mostrar anomalías cromosómicas, salvo en casos excepcionales <sup>4</sup>. Sin embargo, la progresión a un melanoma se asocia al aumento del número de mutaciones y la inestabilidad cromosómica de la proliferación neoplásica, dando lugar a ganancias, amplificaciones o pérdida de material cromosómico específico. Estas alteraciones pueden ser detectadas por diversas técnicas genéticas, útiles para desarrollar pruebas moleculares objetivas que sirvan de herramientas complementarias para la evaluación histológica de tumores melanocíticos ambiguos. El objetivo de este artículo es presentar de forma sucinta los principales métodos moleculares utilizados actualmente en la práctica anatomopatológica para el manejo diagnóstico y terapéutico de los pacientes con melanoma.

## II. INMUNOHISTOQUÍMICA

### Principios de la técnica inmunohistoquímica.

La aparición de la inmunohistoquímica (IHQ) revolucionó el diagnóstico de los tumores melanocíticos. La IHQ se basa en la utilización de anticuerpos específicos para la detección de antígenos proteicos en tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina <sup>5</sup>. Dicha interacción antígeno-anticuerpo se visualiza a través de microscopía óptica por medio de una actividad enzimática y del uso de cromógenos dando una señal de color rojo (fosfatasa alcalina) o marrón (peroxidasa) <sup>6</sup>. La principal ventaja del uso de la IHQ sobre las técnicas moleculares es la visualización morfológica del tejido. Además de determinar la presencia o ausencia de la proteína estudiada, ofrece información semicuantitativa de su expresión y su localización subcelular (membranosa, citoplásmica o nuclear).

### Utilidad de la técnica IHQ para el diagnóstico de melanoma.

El uso diagnóstico de la IHQ está justificado principalmente para la identificación del linaje celular melanocítico, ya que el melanoma puede simular distintos tumores, tales como carcinomas, sarcomas, linfomas y tumores de células germinales <sup>7</sup>. En la práctica clínica, los principales marcadores IHQ utilizados para la diferenciación entre tumores melanocíticos y no-melanocíticos son: Melanoma *antigen recognized by T-cells-1* (también conocido como Melan-A), las proteínas de unión al calcio S-100 (S-100) y *Human Melanoma Black-45* (HMB45) <sup>8, 9</sup>. La detección de expresión de la tirosinasa y del *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF) también pueden ser útiles en dicha diferenciación. Recientemente, se ha establecido que el factor de transcripción nuclear *Sry-related HMG-Box gene 10* (SOX10) es un marcador eficaz para la identificación del melanoma, especialmente en el subtipo desmoplásico <sup>10</sup>. Es importante resaltar que la sensibilidad y especificidad de los marcadores IHQ puede variar de acuerdo con el estudio analizado <sup>11</sup> (Tabla 1).

**Tabla 1. Principales marcadores IHQ utilizados en la rutina diagnóstica del melanoma.**

Marcador	Uso principal	Localización	Patrón de expresión
<b>Melan A</b>	Diagnóstico de tumor melanocítico	citoplásmica	Positivo en tumores melanocíticos (Sensibilidad de 83-100% y especificidad 81-98% 11)
<b>S-100</b>	Diagnóstico de tumor melanocítico	nuclear/citoplásmica	Positivo en tumores melanocíticos (Sensibilidad de 89-100% y especificidad 70-79% 11)
<b>HMB-45</b>	Diagnóstico de tumor melanocítico	citoplásmica	Positivo en tumores melanocíticos (Sensibilidad de 72-100% y especificidad 91-100% 11)
<b>MITF</b>	Diagnóstico de tumor melanocítico	nuclear	Positivo en tumores melanocíticos (Sensibilidad de 100% y especificidad 87-100% 11)
<b>Tirosinasa</b>	Diagnóstico de tumor melanocítico	citoplásmica	Positivo en tumores melanocíticos (Sensibilidad de 90-100% y especificidad 97-100% 11)
<b>SOX10</b>	Diagnóstico de tumor melanocítico	nuclear	Positivo en tumores melanocíticos (Sensibilidad de 100% y especificidad 93% 10)
<b>Ki67</b>	Distinción de tumor melanocítico benigno y maligno	nuclear	Ausente o disminuida en nevus adquiridos y Spitz. Aumentada en el melanoma
<b>p16</b>	Distinción de tumor melanocítico benigno y maligno	nuclear/citoplásmica	Pérdida de expresión nuclear en el melanoma

Marcador	Uso principal	Localización	Patrón de expresión
<b>BAP1</b>	Diagnóstico de tumor melanocítico spitzoide deficiente en BAP1	nuclear	Pérdida de expresión nuclear en la población epitelioides
<b>BRAFV600E</b>	Detección de la mutación BRAFV600E	citoplásmica	Expresión citoplásmica y homogénea en melanomas con mutación BRAFV600E

Distintos trabajos de investigación han demostrado que nevus y melanomas presentan un perfil de expresión proteica diferencial, sin embargo hasta la fecha, ningún marcador ha demostrado una sensibilidad y especificidad adecuada para su uso de rutina en el diagnóstico diferencial entre nevus y melanomas. Aunque todavía no existe un consenso de que marcadores utilizar en la práctica clínica, Ki67 es de los más útiles<sup>8</sup>. Su expresión ocurre en el núcleo de las células proliferativas, siendo más baja (no ausente) en lesiones benignas (nevus adquiridos y nevus de Spitz), que en el melanoma<sup>12,13,14,15</sup>. Además, la localización de expresión de Ki67 en los nevus suele ocurrir en las células de la unión dermo-epidérmica, mientras que en el melanoma es en el componente dérmico más profundo<sup>16,12,15</sup>.

El producto del gen *cyclin-dependent kinase inhibitor 2A* (CDKN2A), la proteína p16, es otro marcador con potencial utilidad diagnóstica. P16 esta relacionada con la regulación del ciclo celular, y la mayoría de los estudios demuestran que su expresión se mantiene en los núcleos de las células del nevus, mientras que hay una pérdida de expresión nuclear en las células de melanoma<sup>17,18,19,14</sup>.

Recientemente, se ha identificado un grupo de tumores melanocíticos en el espectro de los tumores spitzoides caracterizado por la pérdida de expresión de *BRCA1 associated protein-1* (BAP1). Estas lesiones consisten en pápulas o nódulos de color claro, formados por melanocitos epitelioides, con citoplasma amplio, pleomorfismo nuclear y nucléolos prominentes<sup>20,21,22</sup>. Su diagnóstico se confirma por inmunohistoquímica por la pérdida de expresión nuclear de BAP1 en las células epitelioides<sup>22</sup>. En la mayoría de los casos, esta pérdida de expresión de BAP1 ocurre de forma esporádica. Sin embargo, se han identificado familias con mutaciones germinales en el gen BAP1 predisponiendo no solo al desarrollo de estas lesiones melanocíticas múltiples, sino también de melanomas cutáneos, melanoma uveal, mesotelioma y otros cánceres<sup>20,23,24,25</sup> (Tabla 1).

La IHQ también puede ser utilizada en la práctica anatomopatológica con fines terapéuticos para identificar biomarcadores farmacológicos (Tabla 1). La mutación somática más frecuente en los tumores melanocíticos es la mutación V600E del gen *v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1* (BRAF)<sup>26,27</sup>. Afortunadamente, el desarrollo reciente de inhibidores de la proteína mutada BRAF<sup>V600E</sup> ha mejorado la supervivencia de los pacientes con melanoma<sup>28,29,30</sup>. En los pacientes con enfermedad local avanzada o metastásica, la determinación de mutaciones en el gen BRAF es imprescindible para valorar su tratamiento con los nuevos inhibidores BRAF<sup>V600E</sup>. Actualmente, la determinación de mutaciones BRAF<sup>V600E</sup> se hace mayoritariamente a través de métodos moleculares. No obstante, en casos con escaso material o bajo contenido tumoral, la IHQ parece ser una buena alternativa ya que los métodos moleculares pueden presentar falsos negativos<sup>31</sup>. De hecho, la detección IHQ de la proteína mutada BRAF<sup>V600E</sup> a través del anticuerpo anti-BRAF<sup>V600E</sup> (clon VE1) ha demostrado altas tasas de sensibilidad y especificidad en la literatura<sup>32,33,34</sup>. Es importante resaltar que la IHQ solo detecta la mutación V600E, excluyendo así otras mutaciones del gen BRAF susceptibles de tratamiento, como la V600K<sup>30</sup>.

El desarrollo reciente de los moduladores de respuesta inmunológica también ha demostrado una mejoría significativa en la supervivencia de pacientes con melanomas metastático. Los principales inmunomoduladores son anticuerpos monoclonales que bloquean distintas moléculas de los *checkpoints* (o "puntos de control") inmunológicos: *Cytotoxic T lymphocyte-associated Antigen 4* (CTLA-4)<sup>35</sup>, *Programmed Death-1* (PD-1)<sup>36</sup> y *PD-ligand 1* (PD-L1)<sup>37</sup>. Sin embargo, solamente un porcentaje pequeño de los pacientes responde a los inmunomoduladores, lo que justifica una búsqueda exhaustiva de biomarcadores de respuesta clínica a estos fármacos<sup>38</sup>. Todavía no existe un consenso práctico, pero el estudio inmunohistoquímico de la expresión de PD-L1 en células inmunes o tumorales en el melanoma se considera un biomarcador potencial de respuesta a las inmunoterapias<sup>39,40</sup>.

### III. PCR A TIEMPO REAL Y SECUENCIACIÓN GÉNICA

#### Principios de las técnicas de PCR a tiempo real y secuenciación.

Los principales métodos moleculares disponibles para el diagnóstico de biomarcadores en el melanoma se basan en la técnica de *polymerase chain reaction* (PCR) a tiempo real y la secuenciación génica. La PCR a tiempo real es una variante de la PCR convencional que permite la detección de secuencias genómicas predeterminadas. A través del uso de termocicladores y cebadores específicos (*primers*) se amplifica una región del ADN de interés y se cuantifica la señal fluorescente obtenida. Esta técnica tiene como ventajas ser un método sencillo y con alta sensibilidad, capaz de detectar mutaciones con frecuencias alélicas tan bajas como el 1-5%<sup>41,42</sup>.

Los dos tipos de secuenciación más frecuentemente utilizados en los laboratorios de Patología son la secuenciación Sanger y la pirosecuenciación. Ambas requieren una amplificación inicial de la región de interés por la técnica de PCR, seguida de una secuenciación convencional (método Sanger) o secuenciación con detección de moléculas liberadas de pirofosfatos (pirosecuenciación). Presentan límites de detección variables, detectando mutaciones con frecuencias alélicas de 6,6-20% con la técnica de Sanger y de 2-5% con la pirosecuenciación<sup>43,41</sup>.

#### Utilidad de las técnicas de PCR a tiempo real y secuenciación.

Desde un punto de vista práctico, las técnicas de PCR a tiempo real y secuenciación son utilizadas principalmente para la detección de dianas terapéuticas en los tumores de pacientes con enfermedad avanzada.

Cerca de 40-60% de los melanomas presentan mutaciones en el gen BRAF<sup>26,27</sup>. La mayoría de estas mutaciones se localizan en el codón 600 del gen: la más común es la V600E identificada en el 80-90% de los tumores, seguida de la V600K en 5-30%. Otras mutaciones, como la V600R, V600E2 y V600D son raramente observadas en el melanoma<sup>30,44</sup>. Las mutaciones en el gen BRAF generan una activación constitutiva de la ruta de la *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), con una consecuente inducción de programas proliferativos y de supervivencia en las células de melanoma<sup>45</sup>. Como se ha comentado anteriormente, el uso de inhibidores BRAF<sup>V600</sup>, solos<sup>28</sup> o combinados con los nuevos inhibidores MEK<sup>46</sup>, han aumentado la supervivencia de pacientes con enfermedad metastásica. El tratamiento de pacientes con estos nuevos inhibidores requiere el diagnóstico previo de la mutación BRAF<sup>V600</sup> en los melanomas, que en la práctica clínica, se realiza a través de la extracción de ADN de muestras fijadas y *embebidas en parafina* seguida del análisis a través de plataformas basadas en la técnica de PCR a tiempo real<sup>47,42</sup>.

La presencia de alteraciones genéticas (mutaciones y amplificaciones) en el gen receptor de tirosina quinasa (KIT) también posibilita el tratamiento de pacientes con melanoma y enfermedad avanzada. De hecho, los pacientes cuyos melanomas presentan mutaciones activas en el gen KIT responden al uso de los inhibidores de tirosina quinasa<sup>48</sup>. En la práctica clínica, la detección de mutaciones del gen KIT se realiza a través de la secuenciación de los exones 9, 11, 13 y 17. Esta indicada principalmente en los subtipos acrales y de mucosas, donde se expresa en 11-23% de los casos, o en el subtipo cutáneo con daño crónico inducido por el sol, presente en cerca de 10%<sup>49,2</sup>.

Otras mutaciones frecuentemente encontradas en los melanomas son las mutaciones en el gen *v-ras neuroblastoma RAS viral oncogene homolog* (NRAS) que ocurre aproximadamente en el 10-20%<sup>26</sup> y la de los genes *guanine nucleotide-binding protein subunit alpha* (GNAQ o GNA11) que sucede en el 83% de los melanomas uveales<sup>50,51</sup>. Sin embargo, su estudio en la práctica clínica es limitado ya que todavía no condicionan al uso de terapias específicas.

Recientemente, se han identificado mutaciones puntuales en el promotor del gen *telomerase reverse transcriptase* (TERT) en 43-71% de los melanomas<sup>52,53,54</sup>. El gen TERT codifica la subunidad catalítica de la telomerasa y es uno de los principales responsables del mantenimiento de la longitud de los telómeros. Las mutaciones del promotor de TERT son responsables de su activación y del aumento de la expresión de la telomerasa en las células de melanoma<sup>52,53,54,55</sup>. Un estudio reciente ha demostrado que la detección por

secuenciación de estas mutaciones en tumores spitzoides atípicos ha identificado un subgrupo de pacientes con alto riesgo de desarrollo de metástasis y fallecimiento por melanoma, lo que indica su potencial uso como marcador predictivo del comportamiento clínico de los tumores spitzoides <sup>56</sup>.

Importante resaltar el creciente interés por la "biopsia líquida" en pacientes oncológicos <sup>57,58</sup>. La identificación de ADN tumoral en la sangre periférica de pacientes con melanoma metastásico puede ser realizada a través de la extracción de ADN circulante en el plasma seguido del análisis molecular de mutaciones frecuentemente encontradas en el melanoma, como las de los genes BRAF, NRAS, KIT y del promotor TERT <sup>59</sup>. Su uso estaría justificado, por ejemplo, para la monitorización de la progresión tumoral, evitando así la necesidad de biopsias más invasivas <sup>57</sup>. Además, permitiría la cuantificación seriada de ADN tumoral a lo largo del tratamiento, funcionando como un potencial marcador de respuesta terapéutica o recidiva. De hecho, estudios recientes han demostrado la correlación de los niveles circulantes de ADN tumoral con la respuesta clínica de pacientes tratados con los nuevos inhibidores BRAF<sup>V600</sup>/MEK<sup>60</sup> e inmunomoduladores <sup>59</sup>.

#### IV. HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARATIVA (CGH)

##### Principios de la técnica CGH.

La hibridación genómica comparativa basada en microarrays (matriz CGH o aCGH) es una técnica citogenética molecular para la detección de cambios en el número de copias cromosómicas. La CGH compara el genoma de un tumor frente a un genoma de referencia e identifica diferencias entre los dos genomas. El ADN de la muestra de referencia (o de control) se marca con fluoróforo verde (Cyanina 3) y el ADN tumoral del paciente (se extrae y se purifica) se marca con fluoróforo rojo (Cyanina 5). Se mezclan cantidades iguales de las dos muestras de ADN y se cohibridan a una matriz de ADN que contiene varios miles de fragmentos de ADN clonados u oligonucleótidos distribuidos en pocillos uniformemente espaciados, y que se incluyen por triplicado en la matriz.

Después de la hibridación, se utilizan sistemas de digitalización de imágenes para capturar y cuantificar las intensidades de fluorescencia relativas de cada uno de los fluoróforos hibridados. La proporción resultante de las intensidades de fluorescencia es proporcional al ratio de los números de copias de las secuencias de ADN en los genomas de la muestra y el de referencia. De modo que si las intensidades de los fluorocromos son iguales en una sonda, esta región del genoma del paciente se interpreta como que tiene la misma cantidad de ADN en la muestra y en la referencia; Si hay una relación Cy3: Cy5 alterada esto indica una pérdida o una ganancia del ADN de la muestra del paciente en esa región genómica específica <sup>61,62</sup>.

##### Utilidad de la técnica de aCGH en el diagnóstico de melanoma.

La falta de superposición en los patrones de aberraciones cromosómicas en melanomas y nevus ha proporcionado una herramienta para el uso de aCGH como herramienta auxiliar de diagnóstico para detectar malignidad en los casos de tumores ambiguos. El grupo de Bastian et al. fue el primero en aplicar la técnica de CGH a los tumores melanocíticos, demostrando que existen diferencias altamente significativas entre nevus y melanomas: los melanomas muestran una variedad de aberraciones de número de copias, mientras que los nevus prácticamente no presentan aberraciones cromosómicas.

Los primeros estudios realizados demostraron que sólo 7 de 54 nevus (13%) analizados mostraban alguna aberración cromosómica. Estos siete nevus eran todos nevus de Spitz y tenían una sola aberración cada uno, consistente en una ganancia aislada de todo el brazo corto del cromosoma 11 en seis casos; y una ganancia aislada del cromosoma distal 7 en el séptimo. Es notable que la ganancia que implicaba al cromosoma entero 11p no se identificó en ninguno de los 132 melanomas analizados en el mismo estudio <sup>63,64</sup>.

Más recientemente, se ha observado también que un subgrupo de tumores de Spitz atípicos (hasta 25 % de los casos) se asocian a una pérdida aislada de una porción o totalidad del cromosoma 3 que implica la región (3p21) donde se localiza el gen BAP1 <sup>20,21</sup>.

Ya desde los primeros estudios de melanoma con CGH, se observó que más del 96 % de los casos de melanomas tenían alguna aberración cromosómica, incluyendo ganancias de número de copias de 1q, 6p, 7, 8q, 17q y 20q y pérdidas de cromosomas 6q, 8p, 9p y 10q<sup>64,65</sup>.

Un análisis más exhaustivo de 126 melanomas primarios que incluían 30 melanomas de piel con daño solar crónico, 40 melanomas de piel no expuesta al sol, 36 melanomas acrales (palmas y plantas), y 20 melanomas de mucosas, reveló diferencias significativas en las frecuencias de alteraciones regionales en el número de copias de ADN (Tabla 2; <sup>1</sup>). Las muestras podían clasificarse correctamente en uno de los cuatro grupos con un 70% de precisión en base a los cambios en el número de copias del ADN genómico. La comparación de los melanomas que surgen en piel con daño solar crónico frente a aquellos surgidos en piel no expuesta reveló que un melanoma podía clasificarse correctamente con hasta un 84% de precisión y el melanoma acral se podía distinguir del melanoma de mucosas con un 89% <sup>1</sup>).

**Tabla 2. Alteraciones genéticas frecuentes en cada grupo de melanomas (<sup>1</sup>Curtin et al., 2005).**

<b>Tipo de melanoma</b>	<b>Alteraciones cromosómicas comunes</b>
<b>Melanomas piel no expuesta</b>	Ganancias: 6p, 7, 8q, 17q, 20q Pérdidas: 9p, 10, 21q
<b>Melanomas piel con daño solar crónico</b>	Ganancias: 6p, 11q13, 17q, 20q Pérdidas: 6q, 8p, 9p, 13, 21q
<b>Melanomas mucosas</b>	Ganancias: 1q, 6p, 7, 8q, 11q13, 17q, 20q Pérdidas: 3q, 4q, 6q, 8p, 9p, 10, 11p, 11q, 21q Amplificaciones: 1q31, 4q12, 12q14
<b>Melanomas acrales</b>	Ganancias: 6p, 7, 8q, 17q, 20q Pérdidas: 6q, 9p, 10, 11q, 21q Amplificaciones: 5p15, 5p13, 11q13, 12q14

## V. HIBRIDACIÓN IN SITU CON FLUORESCENCIA (FISH)

### Principios de la técnica FISH.

La Hibridación In Situ con Fluorescencia (FISH) se utiliza en el diagnóstico de melanoma para detectar alteraciones en el número de copias cromosómicas. La técnica de FISH consiste en la hibridación de una sección tumoral parafinada fijada en formalina con sondas (fragmentos cortos de ADN) que se unirán a la secuencia escogida del ADN. Cada una de las sondas de ADN está marcada con fluorescencia, y al hibridarse con el ADN del núcleo de la célula tumoral aparece con un punto fluorescente en el microscopio de fluorescencia. Cada punto identifica una sola copia del locus cromosómico, por lo que cada núcleo diploide mostrará dos puntos del mismo color. Si alguna de las regiones de ADN estudiadas está amplificada, se obtendrán más de dos puntos y si en dicha zona se pierde material genético, se observarán menos de dos puntos. Debido a la variabilidad intrínseca de las señales FISH, esta técnica requiere el estudio de un número suficiente de células tumorales en una zona adecuada del tumor (las áreas con las alteraciones en el número de copias más significativas) elegida por un patólogo experto, y estrictas medidas de control de calidad. Como criterio mínimo se establece que se deberían seleccionar 3 áreas anormales, y dentro de cada área, analizar al menos 10 núcleos aleatoriamente a gran aumento (x64 o x100)<sup>4</sup>.

La determinación del conjunto inicial de sondas FISH seleccionado para el diagnóstico de melanoma deriva de un análisis combinatorio de datos procedentes de CGH realizado sobre 136 melanomas cutáneos primarios y 53 nevos<sup>4,64</sup>. La combinación de sondas de FISH que proporcionaba mayor sensibilidad y especificidad a la hora de diferenciar entre nevos y melanomas fueron 3 sondas dirigidas al cromosoma 6 en el brazo corto (6p25), centrómero (CEP6) y brazo largo (6q23) en combinación con una sonda para el



cromosoma 11q13. Este conjunto de sondas demostró un poder discriminatorio con una sensibilidad de 86.7% y una especificidad del 95,4%.

#### Utilidad de la técnica de FISH multicolor de 4 sondas para el diagnóstico de melanoma.

La aplicación del test de FISH de 4 sondas, realizado como parte de la rutina en el hospital en casos ambiguos de proliferaciones neoplásica melanocíticas demostró claramente una reducción del número de diagnósticos equívocos <sup>66</sup>, en particular si los resultados de FISH son positivos.

En el estudio de North et al, analizaron 754 casos ambiguos, de los que 124 (16%) fueron interpretados como positivos con la técnica de FISH. De estos 124 casos, 117 (94%) fueron informados como melanomas tras la revisión de la histología y de la historia clínica. Uno de los casos fue interpretado como equívoco, y los 6 restantes fueron interpretados como nevus melanocíticos a pesar del resultado positivo de FISH. Sin embargo, la sensibilidad del FISH en tumores ambiguos resulta relativamente baja, ~ 70%. En este estudio, 50 de los 167 (8%) melanomas fueron negativos con el FISH. De estos 50 casos, 20 eran lesiones spitzoides; seis de ellas fueron analizadas con CGH que permitió detectar aberraciones cromosómicas que no afectaban a los cromosomas 6 y 11 (Tabla 3) <sup>66</sup>.

Tabla 3. Resultados de FISH y diagnósticos finales en 754 casos ambiguos de neoplasias melanocíticas en el artículo de North et al. (<sup>66</sup>North et al., 2014).

FISH	Diagnóstico final			TOTAL
	Nevus Equívoco	Melanoma		
<b>Negativo</b>	489 (78%)	91 (14%)	50 (8%)	630
<b>Positivo</b>	6 (5%)	1(1%)	117 (4%)	124
<b>TOTAL</b>	495	92	167	754

En un estudio sobre el rendimiento del FISH <sup>67</sup>, se observó que la ganancia de 6p25 era la aberración más frecuente en todos los subtipos de melanoma. Esto es consistente con un estudio de CGH realizado sobre melanomas y nevus inequívocos en los que 6p fue la región que más frecuentemente se ganaba en melanomas (37%), mientras que la pérdida de 6q se observó en menor medida (26%) <sup>64</sup>. La ganancia de 11q13 se observó en sólo el 9% de los melanomas.

Un detalle, que se debe tener siempre en consideración, para evitar el diagnóstico de casos falsos positivos en FISH son los casos poliploides. La poliploidía se detecta en una pequeña proporción de nevus de Spitz <sup>68</sup>.

#### Lesiones spitzoides atípicas.

Ya con los estudios de CGH, se demostraron aberraciones cromosómicas en los tumores spitzoides que no se identificaban en los melanomas convencionales, como demostraron Raskin et al. en su estudio de 16 tumores spitzoides <sup>69</sup>; sin alteraciones en los cromosomas 6 y 11, y sin embargo, en 6 de ellos, presentaban aberraciones en otras áreas cromosómicas. Estudios recientes han demostrado que la adición de las sondas 9p21 y Cep9 para detectar la pérdida homocigótica de 9p21 aumentaba la sensibilidad para la detección de melanomas spitzoides de ~ 70% (con el panel FISH estándar de 4 sondas) hasta 85% en melanomas spitzoides no ambiguos <sup>70</sup>.

Además, Gerami et al.<sup>71</sup> observaron una diferencia significativa en el riesgo clínico de los pacientes con tumores de Spitz atípicos dependiendo de las aberraciones cromosómicas detectadas. Demostraron que (1) los casos con deleción homocigótica 9p21 tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad locorregional avanzada e incluso metástasis a distancia y muerte, (2) los casos con ganancia de 6p25 o 11q13 tienen un riesgo intermedio que muestra una probabilidad estadísticamente más alta de un evento adverso en com-

paración con aquellos casos que carecen de estas aberraciones, y (3) por el contrario, los casos con pérdidas 6q23 o sin aberraciones de número de copias son de menor riesgo.

#### **Nueva combinación de sondas para FISH para el diagnóstico de melanoma.**

En 2012, Gerami et al <sup>70</sup>, redefinen la combinación de sondas para detectar melanomas spitzoides con más sensibilidad, y descartar más fácilmente la existencia de tetraploidía. Definieron una nueva combinación que incluía sondas dirigidas a los loci 9p21, 6p25, 11q13 y 8q24, con una mayor potencia discriminatoria entre nevus y melanomas, con una sensibilidad del 94%, y una especificidad de 98%.

En cualquier caso, el desarrollo de un único test para detectar todos los tipos de melanoma es un objetivo poco realista, debido a la heterogeneidad genómica en el melanoma. Utilizando CGH, Curtin et al <sup>1</sup> demostraron que existen importantes diferencias cromosómicas tanto en el número de ganancias y pérdidas cromosómicas, así como en las localizaciones de tales aberraciones dependiendo del tipo de melanoma. Con esta heterogeneidad genética, se espera encontrar una sensibilidad y especificidad variable para el FISH en los distintos tipos de melanomas, como ocurre con los melanomas spitzoides.

#### **Bibliografía**

1. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005 ;353:2135-47
2. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol* 2014; 9:239-71
3. LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A, eds. 2006. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Skin Tumours. Lyon, Fr.: IARC Press. <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb6/>
4. Gerami P, Jewell SS, Morrison LE, et al. Fluorescence in situ hybridization (FISH) as an ancillary diagnostic tool in the diagnosis of melanoma. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:1146-56.
5. Taylor CR, Burns J. The demonstration of plasma cells and other immunoglobulin-containing cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using peroxidase-labelled antibody. *J Clin Pathol* 1974; 27:14-20
6. Schacht V, Kern JS. Basics of immunohistochemistry. *J Invest Dermatol* 2015; 135: e30.
7. Banerjee SS, Harris M. Morphological and immunophenotypic variations in malignant melanoma. *Histopathology* 2000; 36:387-402.
8. Abbas O, Miller DD, Bhawan J. Cutaneous malignant melanoma: update on diagnostic and prognostic biomarkers. *Am J Dermatopathol*. 2014; 36:363-79.
9. Botti G, Marra L, Anniciello A, Scognamiglio G, Gigantino V, Cantile M. Immune-phenotypical markers for the differential diagnosis of melanocytic lesions. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8:9742-51.
10. Mohamed A, Gonzalez RS, Lawson D, Wang J, Cohen C. SOX10 expression in malignant melanoma, carcinoma, and normal tissues. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013; 21:506-10.
11. Weinstein D, Leininger J, Hamby C, Safai B. Diagnostic and prognostic biomarkers in melanoma. *J Clin Aesthet Dermatol* 2014; 7:13-24.

12. Stefanaki C, Stefanaki K, Antoniou C, et al. Cell cycle and apoptosis regulators in Spitz nevi: comparison with melanomas and common nevi. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 815-24.
13. Kapur P, Selim MA, Roy LC, Yegappan M, Weinberg AG, Hoang MP. Spitz nevi and atypical Spitz nevi/tumors: A histologic and immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* 2005; 18: 197-204.
14. Alonso SR, Ortiz P, Pollán M, Pérez-Gómez B, et al. Progression in cutaneous malignant melanoma is associated with distinct expression profile: a tissue microarray-based study. *Am J Pathol* 2004; 164:193-203.
15. Garrido-Ruiz MC, Requena L, Ortiz P, Pérez-Gómez B, Alonso SR, Peralto JL. The immunohistochemical profile of Spitz nevi and conventional (non-Spitzoid) melanomas: a baseline study. *Mod Pathol* 2010; 23: 1215-24.
16. Nasr MR, El-Zammar O. Comparison of pHH3, Ki-67, and survivin immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol* 2008; 30:117-22.
17. Al Dhaybir, Agoumi M, Gagne I, et al. p16 expression: a marker of differentiation between childhood malignant melanomas and Spitz nevi. *J Am Acad Dermatol* 2011; 65:357-63.
18. Hilliard NJ, Krahl D, Sellheyer K. p16 expression differentiates between desmoplastic Spitz nevus and desmoplastic melanoma. *J Cutan Pathol* 2009; 36:753-9.
19. George E, Polissar NL, Wick M. Immunohistochemical evaluation of p16INK4A, e-cadherin, and cyclin D1 expression in melanoma and Spitz tumors. *Am J Clin Pathol* 2010; 133:370-79.
20. Wiesner T, Obenaus AC, Murali R, et al. Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nat Genet* 2011; 43:1018-21.
21. Wiesner T, Murali R, Fried I, Cerroni L, Busam K, Kutzner H, Bastian BC. A distinct subset of atypical Spitz tumors is characterized by BRAF mutation and loss of BAP1 expression. *Am J Surg Pathol* 2012; 36:818-30.
22. Busam KJ, Sung J, Wiesner T, von Deimling A, Jungbluth A. Combined BRAF(V600E) positive melanocytic lesions with large epithelioid cells lacking BAP1 expression and conventional nevomelanocytes. *Am J Surg Pathol* 2013; 37:193-9.
23. Testa JR, Cheung M, Pei J, et al. Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nat Genet* 2011; 43:1022-5.
24. Abdel-Rahman MH, Pilarski R, Cebulla CM, et al. Germline BAP1 mutation predisposes to uveal melanoma, lung adenocarcinoma, meningioma, and other cancers. *J Med Genet*. 2011; 48:856-59.
25. Harbour JW, Onken MD, Roberson ED, et al. Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science* 2010; 330:1410-13.
26. Goel VK, Lazar AJ, Warneke CL et al. Examination of mutations in BRAF, NRAS, and PTEN in primary cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2006; 126:154-60
27. Ribas A, Flaherty KT. BRAF targeted therapy changes the treatment paradigm in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8:426-33

28. Chapman PB, Hauschild A, Robert C et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with braf V600E mutation. *N Engl J Med* 2011; 364:2507-16.
29. Kudchadkar R, Paraiso KH, Smalley KS. Targeting mutant BRAF in melanoma: current status and future development of combination therapy strategies. *Cancer J* 2012; 18:124-31
30. McArthur GA, Chapman PB, Robert C, et al. Safety and efficacy of vemurafenib in BRAF(V600E) and BRAF(V600K) mutation-positive melanoma (BRIM-3): extended follow-up of a phase 3, randomised, openlabel study. *Lancet Oncol* 2014; 15:323-32
31. Riveiro-Falkenbach E, Villanueva CA, Garrido MC, et al. Intra- and Inter-Tumoral Homogeneity of BRAF(-V600E) Mutations in Melanoma Tumors. *J Invest Dermatol* 2015; 135:3078-85.
32. Capper D, Berghoff AS, Magerle M et al. Immunohistochemical testing of BRAF V600E status in 1,120 tumor tissue samples of patients with brain metastases. *Acta Neuropathol* 2012; 123:223-33
33. Skorokhod A, Capper D, Von Deimling A et al. Detection of BRAF V600E mutations in skin metastases of malignant melanoma by monoclonal antibody VE1. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67:488-91
34. Colomba E, Hélias-Rodzewicz Z, Von Deimling A et al. Detection of BRAF p.V600E mutations in melanomas: comparison of four methods argues for sequential use of immunohistochemistry and pyrosequencing. *J Mol Diagn* 2013; 15:94-100
35. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363:711-23.
36. Topalian SL, Sznol M, McDermott DF, et al. Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving nivolumab. *J Clin Oncol* 2014; 32:1020-30.
37. Brahmer JR1, Tykodi SS, Chow LQ, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012; 366:2455-65.
38. Loo K, Daud A. Emerging biomarkers as predictors to anti-PD1/PD-L1 therapies in advanced melanoma. *Immunotherapy* 2016; 8:775-84.
39. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, Schadendorf D, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med* 2015; 73:23-34.
40. Schats KA, Van Vré EA, De Schepper S1, Boeckx C, Schrijvers DM, Waelput W, et al. Validated programmed cell death ligand 1 immunohistochemistry assays (E1L3N and SP142) reveal similar immune cell staining patterns in melanoma when using the same sensitive detection system. *Histopathology* 2017; 70:253-63.
41. Ihle MA, Fassunke J, König K, et al. Comparison of high resolution melting analysis, pyrosequencing, next generation sequencing and immunohistochemistry to conventional Sanger sequencing for the detection of p.V600E and non-p.V600E braf mutations. *BMC Cancer* 2014; 14:13.
42. Lade-Keller J, Romer KM, Guldborg P, et al. Evaluation of braf mutation testing methodologies in formalin-fixed, paraffin-embedded cutaneous melanomas. *J Mol Diagn* 2013; 15:70-80.

43. Tsiatis AC, Norris-Kirby A, Rich RG, et al. Comparison of Sanger sequencing, pyrosequencing, and melting curve analysis for the detection of KRAS mutations: diagnostic and clinical implications. *J Mol Diagn* 2010; 12:425-32.
44. Oikonomou E, Koustas E, Goulielmaki M, et al. Braf vs RAS oncogenes: are mutations of the same pathway equal? Differential signalling and therapeutic implications. *Oncotarget* 2014; 5:11752-77.
45. Mercer KE, Pritchard CA. Raf proteins and cancer: B-Raf is identified as a mutational target. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1653:25-40.
46. Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, Atkinson V, Liskay G, Maio M, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 371:1867-76.
47. Halait H, Demartin K, Shah 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
48. Hodi FS, Corless CL, Giobbie-Hurder A, Fletcher JA, et al. Imatinib for melanomas harboring mutationally activated or amplified KIT arising on mucosal, acral, and chronically sun-damaged skin. *J Clin Oncol* 2013; 31:3182-90.
49. Garrido MC, Bastian BC. KIT as a therapeutic target in melanoma. *J Invest Dermatol* 2010; 130:20-7.
50. Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, Bauer J, Gaugler L, O'Brien JM, Simpson EM, Barsh GS, Bastian BC. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature* 2009; 457:599-602.
51. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, et al. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363:2191-9.
52. Horn S, Figl A, Rachakonda PS, et al. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science* 2013; 339:959-61.
53. Huang FW, Hodis E, Xu MJ, et al. Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science* 2013; 339:957-9.
54. Griewank KG, Murali R, Puig-Butille JA, et al. TERT promoter mutation status as an independent prognostic factor in cutaneous melanoma. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106.
55. Lee S, Opresko P, Pappo A, et al. Association of TERT promoter mutations with telomerase expression in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2016; 29:391-3.
56. Lee S, Barnhill RL, Dummer R, Dalton J, Wu J, Pappo A, Bahrami A. TERT Promoter Mutations Are Predictive of Aggressive Clinical Behavior in Patients with Spitzoid Melanocytic Neoplasms *Sci Rep* 2015; 5:11200.
57. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2011; 11:426-37.
58. Bettegowda C, Sausen M, Leary R, et al. Detection of circulating tumor ADN in early and late stage human malignancies. *Cancer Res* 2014; 74.

59. Lipson EJ, Velculescu VE, Pritchard TS, et al. Circulating tumor ADN analysis as a real-time method for monitoring tumor burden in melanoma patients undergoing treatment with immune checkpoint blockade. *J Immunother Cancer* 2014; 2:42.
60. Schreuer M, Meersseman G, Van Den Herrewegen S, et al. Quantitative assessment of BRAF V600 mutant circulating cell-free tumor ADN as a tool for therapeutic monitoring in metastatic melanoma patients treated with BRAF/MEK inhibitors. *J Transl Med* 2016; 14:95.
61. Oostlander AE, Meijer GA, Ylstra B. Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clin Genet* 2004; 66:488-95.
62. Bejjani BA, Shaffer LG. Applications of array-based comparative genomic hybridization to clinical diagnostics. *J Mol Diagn* 2006; 8:528-33.
63. Bastian BC, Wesselmann U, Pinkel D, LeBoit PE. Molecular cytogenetic analysis of Spitz nevi shows clear differences to melanoma. *J Invest Dermatol* 1999; 113:1065-69.
64. Bastian BC, Olshen AB, LeBoit PE, Pinkel D. Classifying melanocytic tumors based on ADN copy number changes. *Am J Pathol* 2003; 163:1765-70.
65. Bastian BC, LeBoit PE, Hamm H et al. Chromosomal gains and losses in primary cutaneous melanomas detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Res* 1998; 58:2170-5.
66. North JP, Garrido MC, Kolaitis NA, et al. Fluorescence in situ hybridization as an ancillary tool in the diagnosis of ambiguous melanocytic neoplasms: a review of 804 cases. *Am J Surg Pathol* 2014; 38:824-31.
67. Gerami P, Mafee M, Lurtsbarapa T, et al. Sensitivity of fluorescence in situ hybridization for melanoma diagnosis using RREB1, MYB, Cep6, and 11q13 probes in melanoma subtypes. *Arch Dermatol*. 2010; 146:273-8.
68. Isaac AK, Lertsburapa T, Pathria Mundi J, et al. Polyploidy in spitz nevi: a not uncommon karyotypic abnormality identifiable by fluorescence in situ hybridization. *Am J Dermatopathol* 2010;32: 144-8.
69. Raskin L, Ludgate M, Iyer RK, et al. Copy number variations and clinical outcome in atypical spitz tumors. *Am J Surg Pathol* 2011; 35:243-52.
70. Gammon B, Beilfuss B, Guitart J et al. Enhanced detection of spitzoid melanomas using fluorescence in situ hybridization with 9p21 as an adjunctive probe. *Am J Surg Pathol* 2012; 36:81-8.
71. Gerami P, Scolyer RA, Xu X, et al. Risk assessment for atypical spitzoid melanocytic neoplasms using FISH to identify chromosomal copy number aberrations. *Am J Surg Pathol* 2013; 37:676-84.
72. Gerami P, Li G, Pouryazdanparast P et al. A highly specific and discriminatory FISH assay for distinguishing between benign and malignant melanocytic neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2012; 36:808-17.
73. Mangini J, Li N, Bhawan J. Immunohistochemical markers of melanocytic lesions: a review of their diagnostic usefulness. *Am J Dermatopathol* 2002; 24:270-81.
74. Stefanski C, Stefanski K, Antoniou C, et al. G1 cell cycle regulators in congenital melanocytic nevi. Comparison with acquired nevi and melanomas. *J Cutan Pathol* 2008; 35:799-808.

# Papel del patólogo en la predicción de respuesta a la inmunoterapia en melanoma y otros cánceres cutáneos

**Carlos Monteagudo Castro**

*Hospital Clínico Universitario de Valencia, INCLIVA y Universidad de Valencia.*

## I. INTRODUCCIÓN

El sistema inmune juega un papel esencial en el control de las neoplasias. Y su función está modulada por varios puntos de control o reguladores (PD-1, CTLA-4)<sup>1,2</sup> que en circunstancias normales bloquean la respuesta inmune mediada por linfocitos T, manteniéndola bajo control y evitando una acción excesiva durante la inflamación, así como la agresión autoinmune. Pero, en los últimos cinco años se han obtenido anticuerpos clínicamente efectivos frente a estas principales moléculas reguladoras, que al quedar anuladas, facilitan la activación y función de los linfocitos T frente a las células neoplásicas<sup>2</sup>. Y este avance, que se inició con el melanoma, está revolucionando el tratamiento del cáncer.

PD-1 es un receptor inhibidor presente en la superficie de linfocitos T activados y que actúa en el propio tumor, uniéndose a sus ligandos (PD-L1 y PD-L2) en la superficie de las células neoplásicas<sup>1</sup>, lo que permite a estas últimas evadir la respuesta inmune, inhibiendo la proliferación linfocitaria y su producción de citoquinas. Por tanto, una sobreexpresión de PD-L1 en las células tumorales puede inhibir la respuesta inmune anti-tumoral<sup>3</sup>. El bloqueo de esta unión receptor-ligando con anticuerpos monoclonales (nivolumab, pembrolizumab) se ha convertido en una importante arma en la terapia oncológica<sup>4</sup>. En concreto, en melanoma avanzado se obtienen respuestas objetivas totales o parciales en el 31-44% de pacientes<sup>5</sup>.

CTLA-4, otro receptor inhibidor, está presente en linfocitos T en las fases iniciales de activación y actúa uniéndose a sus ligandos (B7.1 y B7.2) presentes en las células presentadoras de antígenos en el ganglio linfático, lo que inhibe la activación de las células T<sup>1</sup>. CTLA-4 es susceptible de ser bloqueado por ipilimumab, un fármaco utilizado en melanoma avanzado y que produce una tasa de respuesta del 11% y una supervivencia prolongada en el 22%<sup>6,7</sup>.

## II. BIOMARCADORES PREDICTIVOS EN MELANOMA

Debido a la variable tasa de respuesta de estos fármacos y a la apreciable toxicidad de base inmune es muy importante disponer de buenos biomarcadores predictivos. De hecho, son necesarios tanto marcadores con valor predictivo positivo como negativo. El valor predictivo positivo se calcula mediante el cociente entre el número de pacientes que el marcador ha predicho correctamente que responderán y el número total de pacientes con ese marcador positivo. El valor predictivo negativo se calcula mediante el cociente



entre el número de pacientes que el marcador negativo ha predicho que no responderían y el número total de pacientes con el biomarcador negativo <sup>8</sup>.

Las estrategias empleadas para identificar estos biomarcadores predictivos de respuesta a los anti-CTLA-4 y PD-1/PD-L1 se han basado hasta ahora en marcadores de la respuesta inflamatoria T, y más recientemente la carga mutacional o de neoantígenos <sup>8</sup>.

#### a) Expresión de PD-L1

Un biomarcador lógico de respuesta a los anti-PD-1/PD-L1 es la valoración de la expresión de PD-L1 en las células tumorales. Los datos iniciales, en melanoma y otros cánceres no cutáneos<sup>9</sup>, apoyaban un valor potencial de la cuantificación de la expresión inmunohistoquímica de PD-L1 en las células tumorales en muestras biópsicas. Estudios posteriores en pacientes con melanoma avanzado también encuentran una mayor supervivencia libre de progresión y global en los pacientes con tumores PD-L1+ <sup>10,11</sup>. Pero también es cierto que un subgrupo de pacientes con tumores PD-L1 negativos, y que alcanza en algunos estudios el 41% o el 54% <sup>10,11</sup>, tiene respuestas objetivas globales. Esto nos indica que el valor predictivo negativo de la expresión tumoral de PD-L1 es claramente subóptimo (58% para nivolumab, y 45% para nivolumab + ipilimumab). Y esto puede ser debido a que hay muchos factores que influyen en la expresión de PD-L1 en un momento determinado en un área concreta tumoral. Así, la expresión de PD-L1 está regulada por las vías MAPK, PI3K y AKT, por factores de transcripción y por fenómenos epigenéticos <sup>12</sup>. Además, esta expresión está modulada cronológicamente, muestra heterogeneidad intratumoral y puede ser transitoria <sup>13</sup>[13]. A esto hay que añadir la gran variedad de anticuerpos para PD-L1 así como los diferentes puntos de corte para distinguir un caso positivo de uno negativo, y que van desde el 1% al 50%, y con ninguno de ellos el valor predictivo positivo y negativo se aproxima al 100%. Esto se puede explicar por la presencia en el tumor de otros factores supresores de la respuesta inmune, distintos de la expresión de PD-L1, como las células T reguladoras Fox-P3+, IDO o LAG-3<sup>8</sup>.

Sin embargo, a pesar de todas estas limitaciones, la expresión de PD-L1 en la población tumoral permite estratificar pacientes. Así, en octubre de 2015, la FDA aprobó un test inmunohistoquímico (PDL1 IHC 22C3 pharmDx) como “*companion*” para el carcinoma no microcítico pulmonar, con un punto de corte del 50% de células positivas para PD-L1 <sup>14</sup>. Sin embargo, dos ensayos adicionales fase III usando otro marcador inmunohistoquímico (PDL1 IHC 28-8 pharmDx) con otro fármaco anti-PD1 (nivolumab) encontraron correlación solo en los carcinomas no escamosos. Y este segundo anticuerpo fue aprobado ese mismo mes de octubre como test “*complementario*” por la FDA para carcinoma no microcítico no escamoso, pero en este caso el punto de corte para considerar positivo para PD-L1 era del 1%.

Pues bien, en relación con los cánceres cutáneos, el 23 de enero de 2016, la FDA amplió para el melanoma la aprobación de la aplicación premercado (PMA P150027) del empleo del clon 28-8 del anticuerpo monoclonal de conejo “PD-L1 IHC 28-8 pharmDx” (Dako/Agilent) como test “*complementario*” diagnóstico (en muestras tumorales fijadas en formol, incluidas en parafina y usando la visualización Envision Flex y el Autostainer Link 48) para valorar la magnitud del beneficio que los pacientes con melanoma pueden obtener con el anti-PD1 nivolumab.

Esta aprobación se basa en el ensayo clínico multicéntrico, doble ciego, Checkmate 067, CA209067, que randomizó 945 pacientes con melanoma irreseccable o metastático, no tratado previamente, para nivolumab + ipilimumab, nivolumab solo, o ipilimumab solo <sup>11</sup>. Se establecieron dos puntos de corte para caso positivo o negativo: el 1% y el 5% de células tumorales positivas. Solo se consideró inmunotinción positiva la presencia de un patrón lineal de membrana, circunferencial o parcial, de cualquier intensidad. Para su valoración se requiere un mínimo de 100 células tumorales viables. No se debe valorar la inmunotinción citoplasmática, ni tampoco la presente en células no tumorales (linfocitos y/o macrófagos). Y en caso de que la cantidad de melanina sea tan alta que impida la valoración del patrón de membrana debe considerarse el caso como “*indeterminado*”. Y el interés de este test inmunohistoquímico, que tiene también la Conformidad Europea (CE), consiste en que se comprobó que los casos negativos (PD-L1 <1%) tenían un mayor beneficio con la combinación de ipilimumab y nivolumab sobre la de



cualquiera de ellos en monoterapia, mientras que en los pacientes con tumores positivos (PD-L1  $\geq 1\%$ ) la supervivencia libre de progresión era similar para nivolumab solo o combinado con ipilimumab, comparado con ipilimumab solo. Por tanto, este anticuerpo puede usarse como una ayuda en la decisión sobre la posible combinación de nivolumab e ipilimumab. Algunos autores, sin embargo, no creen que el estado de expresión de PD-L1 sea clave en esta decisión ya que en la mayor parte de estudios sobre la combinación de ipilimumab y nivolumab las respuestas han sido similares independientemente del estado de PD-L1<sup>15-17</sup>. Además, los pacientes con melanomas diseminados pueden tener tumores tanto PD-L1 positivos como negativos<sup>18</sup>.

Y, llegados a este punto, es muy importante entender la distinción por la FDA entre test “*companion*” y “*complementary*”. Un test “*companion diagnostic*” es un dispositivo médico, a menudo in vitro, que proporciona información “esencial” para el uso seguro y efectivo de un fármaco o producto biológico determinado. Este test ayuda al profesional de la salud a determinar si los beneficios de un producto terapéutico particular para los pacientes superan a cualquier efecto secundario importante<sup>19,20</sup>. Sin embargo, un test complementario (“*complementary diagnostic*”) es aquel que puede aportar información útil para decidir el tratamiento pero no es imprescindible. Ayudan en la valoración riesgo-beneficio en pacientes individuales pero no son prerequisites para recibir el fármaco<sup>21</sup>.

#### **b) Densidad de linfocitos CD8 en el frente de invasión**

Pero no solo es relevante para la respuesta al tratamiento anti-PD-1 la expresión de PD-L1 por las células tumorales sino también la expresión de PD-1 por los linfocitos en el frente de invasión tumoral, así como que éstos tengan una especificidad antigénica menos diversa<sup>22</sup>. De hecho, por sí mismos, la densidad y localización de linfocitos T en melanomas metastásicos tienen valor predictivo terapéutico en pacientes tratados con anti-PD1/PD-L1. Una mayor densidad de linfocitos T CD8+ en el frente de invasión del tumor antes del tratamiento se asocia a una respuesta antitumoral relevante<sup>23,24</sup>. Más aún, la ausencia de células T CD8 es una de las principales causas de resistencia a los anti-PD1. Pero también se ha identificado otro mecanismo de resistencia cuando hay muchos linfocitos intratumorales PD1+: el tratamiento reduce la expresión de PD-1 en los linfocitos, lo que favorece la respuesta, pero los casos en tratamiento que mantienen alta expresión de PD-1 son resistentes<sup>25</sup>. Pero, de nuevo, no es fácil establecer mediante inmunohistoquímica un nivel crítico o punto de corte clínicamente útil de la densidad de linfocitos CD8+ o de la expresión de PD-1 en dicha población<sup>8,25</sup>. Se ha descrito asimismo que la pérdida de PTEN en melanoma promueve la resistencia a la inmunoterapia mediada por células T<sup>26</sup>.

Por otro lado, PD-L1 se sobreexpresa en las células tumorales como respuesta a la secreción de moléculas por linfocitos T, y por tanto es un indicador de la presencia de células CD8+ en el tumor. Pero algunas células tumorales tienen mecanismos intrínsecos de sobreexpresar PD-L1 sin presencia de linfocitos T, y esto se correspondería con falsos positivos<sup>27</sup>.

#### **c) Carga mutacional o neoantigénica**

El melanoma es uno de los cánceres con mayor carga mutacional<sup>28</sup> y, por tanto, el número de neoantígenos capaces de ser reconocidos por el sistema inmunitario y con capacidad de estimular una respuesta inmune es muy alto comparado con otros tipos de cáncer<sup>29,30</sup>. Así, muchos autores creen que los estudios de base genómica permitirán predecir mejor la respuesta en inmunoterapia<sup>27,29,30</sup>.

### **III. BIOMARCADORES PREDICTIVOS EN EL CARCINOMA DE CÉLULAS DE MERKEL**

En esta neoplasia cutánea están presentes varios factores considerados biomarcadores de respuesta: tiene expresión de PD-L1, presencia frecuente de infiltrados de linfocitos CD8, y puede tener una alta carga mutacional, bien inducida por la radiación ultravioleta o asociada al polyomavirus (MCPV) con los que asocia en muchos casos y que dan lugar a antígenos víricos<sup>31</sup>. De hecho, estos últimos se han propuesto recientemente para predecir la respuesta a la terapia anti-PD1 ya que a

nivel mundial más del 20% de los cánceres están asociados a virus y los antígenos víricos pueden ser potencialmente potentes estimulantes inmunes, y muchos de ellos presentan importantes infiltrados linfocitarios.

El tratamiento con el anti-PD-1 pembrolizumab en el carcinoma de Merkel tiene una tasa de respuesta objetiva del 56%<sup>31</sup>. La tasa estimada de supervivencia libre de progresión a los 6 meses fue del 67%. Estos hallazgos iniciales mejoran claramente los de la quimioterapia convencional que dan una mediana de supervivencia libre de progresión de 3 meses, con progresión de la enfermedad en el 90% de los pacientes<sup>31</sup>. La tasa de respuesta de los pacientes MCPV+ fue del 62% y la de aquellos con tumores MCPV- del 44%. Por tanto, ambos tipos de carcinoma de Merkel parecen ser inmunogénicos. Aunque actualmente nos centramos en la capacidad de mantener activos linfocitos T específicos para neoantígenos asociados a mutaciones somáticas en células tumorales. Sin embargo, dada la respuesta de pacientes cuyos tumores tienen baja carga mutacional, como son los MCPV-negativos, sugiere que los antígenos expresados por los virus oncogénicos podrían ser también una diana de los linfocitos T para el bloqueo de PD-1/PD-L1.

En octubre de 2016, la Agencia Europea de Medicamentos ha autorizado y validado la aplicación comercial del anti-PD-L1 avelumab como tratamiento para pacientes con carcinoma de Merkel metastásico en base a los resultados del estudio fase II Javelin Merkel 200<sup>32</sup>, que obtuvo una tasa de respuesta objetiva positiva en el 31,8% incluyendo una respuesta completa del 9,1%. La tasa global de respuesta para el grupo de pacientes con tumores PD-L1+ fue del 34,5%, y del 18,8% para los negativos. En aquellos en los que no se pudo determinar la expresión de PD-L1, la respuesta global fue del 35,7%. En cuanto a la presencia del MCPV, se obtuvo una tasa de respuesta global de 26,1% y 35,5% para los positivos y negativos, respectivamente.

#### IV. CONCLUSIONES

- La detección inmunohistoquímica de PD-L1 en células tumorales es un biomarcador predictivo importante, pero no definitivo, de respuesta al bloqueo PD1-PD-L1. En algunos cánceres, como el melanoma y el carcinoma de células de Merkel, la respuesta es independiente de esta expresión, es decir, que algunos pacientes responden aunque sus células tumorales no expresen PD-L1.
- Además, la expresión de PD-L1 es un fenómeno dinámico y heterogéneo, debido a cambios en el microambiente tumoral o a los tratamientos, por lo que su valoración en un momento determinado puede no tener valor predictivo.
- Se requiere una estandarización tanto de la realización como de la evaluación de la inmunotinción para PD-L1 antes de utilizar este criterio para predecir respuesta al bloqueo PD1/PD-L1.
- En este momento no hay ningún marcador obligatorio para determinar qué pacientes con cáncer cutáneo (melanoma o carcinoma de células de Merkel) pueden recibir los tratamientos con anti-CTLA-4, anti-PD1 o anti-PD-L1.
- Solo hay a día de hoy (última semana de diciembre de 2016) un anticuerpo (PD-L1 IHC 28-8 pharmDx) que, sin ser esencial, puede aportar información útil en pacientes con melanoma avanzado para decidir la monoterapia o combinación de nivolumab e ipilimumab.
- Así, actualmente se impone el empleo de cada anticuerpo para inmunohistoquímica optimizado para cada tipo de cáncer y para cada protocolo terapéutico o punto de decisión clínica. Y para ello se están creando plataformas para optimizar y uniformizar este objetivo para todos los pacientes.
- En el próximo futuro, probablemente se utilizarán también marcadores predictivos genéticos (carga mutacional y/o número de neo-epitopos) e inmunológicos (clonalidad de las células T intratumorales) además de la expresión de PD-L1, PD-L2, PD-1, CTLA-4, PTEN, IDO, entre otros).

#### Bibliografía

1. Merelli B, Massi D, Cattaneo L, Mandalà M. Targeting the PD1/PD-L1 axis in melanoma: biological rationale, clinical challenges and opportunities. *Crit Rev Oncol Hematol* 2014;89:140-165.

2. Friedman CF, Postow MA. Emerging Tissue and Blood-Based Biomarkers that may Predict Response to Immune Checkpoint Inhibition. *Curr Oncol Rep* 2016;18:21.
3. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 2012; 24:207-212.
4. Topalian SL, Taube JM, Anders RA, Pardoll DM. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2016;16:275-287.
5. Topalian SL, Sznol M, McDermott DF, et al. Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving nivolumab. *J Clin Oncol* 2014;32:1020-1030.
6. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:711-723.
7. Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, et al. Pooled analysis of long-term survival data from phase II and phase III trials of ipilimumab in unresectable or metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2015;33:1889-1894.
8. Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol* 2016;17:e542-e551.
9. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366:2443-2454.
10. Mahoney KM, Atkins MB. Prognostic and predictive markers for the new immunotherapies. *Oncology* 2014; 28 (suppl 3):39-48.
11. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 373: 23-34.
12. Chen J, Jiang CC, Jin L, Zhang XD. Regulation of PD-L1: a novel role of pro-survival signalling in cancer. *Ann Oncol* 2016;27:409-416.
13. Mansfield AS, Murphy SJ, Peikert T, et al. Heterogeneity of programmed cell death ligand 1 expression in multifocal lung cancer. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 2177-2182.
14. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;372:2018-2028.
15. Postow MA et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015;372:2006-2017.
16. Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 2013;369:122-133.
17. Wolchock JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Updated results from a phase III trial of nivolumab (NIVO) combined with ipilimumab (IPI) in treatment-naive patients (pts) with advanced melanoma (MEL) (CheckMate 067). 2016 ASCO Annual Meeting; Chicago, IL; June 3-7, 2016. Abstr 9505.

18. Madore J et al. PD-L1 expression in melanoma shows marked heterogeneity within and between patients: implications for antiPD-1/PD-L1 clinical trials. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015;28:245–253.
19. Food and Drug Administration. Companion diagnostics. <http://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/InVitroDiagnostics/ucm407297.htm>
20. Duffy MJ, Crown J. Companion biomarkers: paving the pathway to personalized treatment for cancer. *Clin Chem* 2013;59:1447-1456.
21. Mansfield E. Precision Medicine at FDA. Food and Drug Administration OIR/CDRH, Nov 18, 2015. <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/ScienceBoardtotheFoodandDrugAdministration/UCM473506.pdf>
22. Wolchok JD, Chan TA. Cancer: Antitumour immunity gets a boost. *Nature* 2014;515:496-498.
23. Hamid O, Schmidt H, Nissan A, et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J Transl Med* 2011; 9: 204.
24. Tumei PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature* 2014;515:568–571.
25. Ngiew SF, Young A, Jacquelot N, et al. A threshold level of intratumor CD8+ T-cell PD1 expression dictates therapeutic response to anti-PD1. *Cancer Res* 2015;75:3800-3811.
26. Peng W, Chen JQ, Liu C, et al. Loss of PTEN promotes resistance to T cell-mediated immunotherapy. *Cancer Discovery* 2016;6:202-216.
27. Spranger S. Checkpoint Blockade Therapies in Melanoma. *OncLive*, Dec 16, 2016. <http://www.onclive.com/onclive-tv/stefani-spranger-on-checkpoint-blockade-therapies-in-melanoma>
28. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 2013;499:214–218.
29. Van Allen EM, Miao D, Schilling B, et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science* 2015;350:207-211.
30. Gubin MM, Schreiber RD. Cancer. The odds of immunotherapy success. *Science* 2015;350:158-159.
31. Nghiem PT, Bhatia S, Lipson EJ, et al: PD-1 blockade with pembrolizumab in advanced Merkel cell carcinoma. *N Engl J Med.* 2016;374:2542-2552.
32. Kaufman HL, Russell J, Hamid O, et al. Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: a multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17:1374-1385.

# Claves diagnósticas clinicopatológicas de las lesiones cutáneas asociadas al tratamiento del melanoma metastásico con inhibidores de la mutación del gen BRAF

Dr. Miguel Angel Idoate Gastearena.

*Dpto. de Anatomía Patológica. Clínica Universitaria y Facultad de Medicina.  
Universidad de Navarra.*

## I. INTRODUCCIÓN

En este trabajo se han tenido en cuenta especialmente aquellas lesiones cutáneas asociadas al tratamiento con inhibidores de la mutación del gen *BRAF*, que suelen ser biopsiadas y que tienen especial interés desde el punto de vista histopatológico. Es un hecho conocido que la proteína mutada BRAF estimula el crecimiento de las células tumorales del melanoma. En el actual tratamiento del melanoma diseminado se emplean inhibidores de la mutación *BRAF*, que incluyen a moléculas muy distintas, pero que tienen en común el bloqueo de las proteínas mutadas V600E y V600K, ésta menos frecuente, del gen *BRAF*. Estos eficaces inhibidores tienen un efecto secundario relevante como es la inducción de lesiones cutáneas<sup>1</sup>. Se trata de lesiones sobre las que se plantean interesantes cuestiones patogénicas, ya que es sorprendente que un mecanismo de bloqueo de una mutación puede generar un proceso proliferativo.

En esta revisión hemos clasificado las lesiones cutáneas surgidas en relación con tratamientos con inhibidores de la proteína mutada del gen *BRAF* en lesiones proliferativas queratinocíticas, lesiones inflamatorias y alteraciones melanocitarias. De éstas tienen especial incidencia las primeras, que son las que además muestran una mayor variedad lesional desde el punto de vista histopatológico (tabla 1). Frecuentemente estas lesiones son múltiples y combinadas de una forma singular en cada paciente (tabla 2). Es interesante reseñar que algunas de estas lesiones tienen un carácter transitorio, ya que tienden a resolverse independientemente de que persista el tratamiento. Este hecho es importante porque tiene implicaciones biológicas y de actitud terapéutica. Por el contrario, otras lesiones tienen tendencia a permanecer en el paciente, aunque esto no es óbice para que el tratamiento con los inhibidores de *BRAF* se mantenga.

## II. CLAVES DIAGNÓSTICAS CLINICOPATOLÓGICAS DE LAS LESIONES QUERATINOCÍTICAS PROLIFERATIVAS ASOCIADAS AL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE LA PROTEÍNA MUTADA DEL GEN *BRAF*

Existe una amplia gama de lesiones proliferativas queratinocíticas benignas y malignas descritas en pacientes tratados por metástasis de melanoma con mutación V600E en tratamiento continuado con inhi-

bidores de *BRAF*. Se trata de un espectro lesional que va desde las lesiones quísticas escasamente proliferativas, que no tienen rasgos morfológicos especiales, a proliferaciones queratinocíticas marcadas del tipo de queratosis verrucosas y carcinomas escamosos. En las series más amplias publicadas<sup>2</sup> se indica que la lesión con mayor incidencia es la queratosis verrucosa (49%) seguida de la hiperqueratosis plantar (22%) y del carcinoma escamoso (20%). Otras lesiones frecuentes a reseñar son las erupciones tipo acné, la alopecia y las alteraciones en la estructura del pelo.

## 1. Lesiones proliferativas queratinocíticas benignas

**Queratosis verrucosa.** Si bien algunos autores diferencian a las queratosis verrucosas en papilomas, verrugas vulgares y queratosis seborreicas, no parece que esta diferenciación sea reproducible. De acuerdo con algunos autores<sup>2</sup> consideramos que es preferible el uso del término genérico de queratosis verrucosas para agrupar a todas ellas. Algunas de estas lesiones tienen un claro carácter papilomatoso o queratoacantomatoso. Pueden surgir en cualquier parte del cuerpo, siendo más frecuentes en la cara<sup>3</sup>, en forma de pápulas o nódulos queratóticos. El tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento es relativamente corto, con una mediana de 11 semanas.

Histopatológicamente, si bien parecen frecuentemente verrugas vulgares<sup>3</sup>, la hipergranulosis es menos marcada y no muestran el característico efecto citopático viral (fig. 1). Pueden mostrar atipia, aunque raramente pueden malignizar<sup>2,4,5</sup>. Algunos autores denominan a estas lesiones *proliferaciones escamosas atípicas*<sup>4</sup>. Sólo de forma excepcional se ha identificado el virus del papiloma humano (VPH)<sup>6,7</sup>. Con frecuencia se detectan mutaciones de los genes *RAS*, *HRAS* o *KRAS*<sup>8-10</sup>.

**Hiperqueratosis folicular y plantar.** Son lesiones frecuentes que suponen hasta un 22% de las lesiones cutáneas secundarias al tratamiento con inhibidores de la proteína mutada *BRAF*. La *hiperqueratosis folicular (queratosis pilaris)* y sus variantes surgen en forma de pequeñas pápulas hiperqueratóticas diseminadas localizadas en la cara y extremidades<sup>11</sup>. Histológicamente corresponde a un engrosamiento del estrato córneo que afecta a los acroinfundíbulos, a la epidermis o a los acrosiringios. La *hiperqueratosis plantar* aparece en zonas de presión y fricción, pero sin desarrollo de ampolla. Estas hiperqueratosis pueden ser reproducidas experimentalmente mediante la activación del gen *MEK*<sup>12</sup>.

**Foliculitis hiperplásicas y variantes.** Incluye un amplio espectro lesional en el que se puede distinguir entre lesiones foliculares quísticas, foliculitis disqueratósicas y foliculitis perforantes (fig. 2). La forma de presentación clínica es como un *rash* folicular o pústulas dispersas. Histológicamente corresponden a infiltrados linfocitarios y neutrofilicos perifoliculares<sup>11</sup>.

**Siringometaplasia escamosa ecrina.** Estas lesiones se presentan como un *rash* prurítico consistente en pápulas eritematosas múltiples de 3 a 5 mm de diámetro que afectan especialmente a la cara y que aparecen por lo general entre 2 semanas y 5 meses del inicio del tratamiento. No suelen mostrar la más habitual afectación acral o intertriginosa de las siringometaplasias convencionales. Se trata de lesiones proliferativas con capacidad metaplásica escamosa (fig. 3) que afectan a los conductos de las glándulas sudoríparas y que se acompañan de un ligero infiltrado inflamatorio linfocitos eosinofílico y macrofágico. Son lesiones que tienden a desaparecer espontáneamente a pesar de la continuación del tratamiento. También se han descrito en relación con otros fármacos como son los inhibidores de tirosin-quinasa, los fármacos citotóxicos y el tamoxifeno<sup>13-15</sup>.

**Siringomas eruptivos.** Son siringomas convencionales que tras el tratamiento con inhibidores de la mutación *BRAF* adquieren un carácter eruptivo (fig.4). Las lesiones se resuelven a pesar de la continuidad del tratamiento<sup>16</sup>.

**Disqueratomas verrucosos.** Se presentan en forma de pápulas descamativas surgidas en piel de tórax tras varias semanas de iniciado el tratamiento con inhibidores de la mutación *BRAF*. No tiene rasgos histopatológicos que permitan diferenciarla de la que aparece en otros contextos clínicos<sup>3</sup>.

## 2. Lesiones proliferativas queratinocíticas premalignas y malignas

**Queratosis actínica.** Son lesiones frecuentes similares a las queratosis actínicas convencionales. A veces adquieren un marcado carácter pigmentado.

**Carcinomas escamosos (CE).** La incidencia de los CE es distinta según sea el tipo de inhibidor de la proteína mutada *BRAF*, siendo mayor en relación con vemurafenib<sup>2</sup>. La mediana de tiempo observada entre el inicio del tratamiento y la aparición del CE es de 8 semanas<sup>2</sup>, siendo más precoces los CE asociados a vemurafenib<sup>4</sup>. También parece ser diferente la topografía lesional: en el caso del vemurafenib predominan las lesiones en la cabeza y el cuello, mientras que los CE asociados a dabrafenib se localizan en brazos superiores y tórax<sup>6</sup>. Pueden ser únicos o más frecuentemente múltiples<sup>17,11</sup> y aparecer indistintamente en áreas expuestas o no al sol<sup>4</sup>. Se trata por lo general de tumores bien diferenciados que exhiben un carácter queratoacantomatoso o verrucoso (fig. 5), de conducta clínica poco agresiva, con escasa tendencia a la infiltración, aunque se han descrito inusuales casos muy invasivos<sup>11</sup>, recidivantes<sup>4</sup> o con infiltración perineural<sup>18</sup>. Para algunos autores se trata de verdaderos queratoacantomas<sup>1,4,19</sup>.

Desde el punto de vista patogénico, en los CE surgidos sobre piel no fotoexpuesta se observa expresión de la proteína ERK fosforilada, que se puede reproducir experimentalmente<sup>20-22</sup>. Esta expresión podría deberse a una activación paradójica sobre la molécula de *BRAF* no mutada, debido a un fenómeno de dimerización de las proteínas *BRAF/BRAF* o *BRAF/CRAF*<sup>21</sup>. Otro fenómeno patogénico interesante es que exista además en el tejido una mutación activadora del gen *RAS*<sup>9,10,20</sup>. Por otro lado, como parecía previsible, sólo se ha detectado VPH convencional en casos excepcionales<sup>7,23</sup>. En la actualidad, la investigación se enfoca al beta-VPH como una causa de estos singulares CE<sup>24</sup>.

**Carcinoma basocelular.** Son tumores muy raros sin rasgos diferenciales respecto a los carcinomas basocelulares convencionales<sup>1,11</sup>.

### III. CLAVES DIAGNÓSTICAS CLINICOPATOLÓGICAS DE LAS LESIONES INFLAMATORIAS ASOCIADAS AL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE LA PROTEÍNA MUTADA DEL GEN *BRAF*

Se trata de lesiones infrecuentes que pueden tipificarse como inflamaciones dérmicas inespecíficas, folliculitis y perifolliculitis, urticaria, dermatosis acantolíticas y eritema nodoso, entre otras, que no muestran particularidades especiales desde el punto de vista anatomopatológico<sup>5,25</sup>. A continuación se tratan con detalle las más singulares.

**Dermatitis de interfase.** Se manifiestan clínicamente como exantemas máculo-papulosos. Histopatológicamente se trata de infiltrados inflamatorios inespecíficos linfomacrofágicos con un escaso componente de eosinófilos que ocasionan degeneración hidrópica o liquenoide de la basal (fig. 6) y que muestran especial proclividad a situarse alrededor de los folículos pilosos y conductos de las glándulas sudoríparas. No se han observado depósitos inmunes<sup>11</sup>.

**Hiperplasias linfoides (pseudolinfomas) y variantes.** Se han descrito reacciones inflamatorias linfoides intensas no asociadas a lesiones preexistentes, quizás porque éstas han regresado (fig.7). Más frecuentemente se aprecian en torno a melanomas o nevus melanocíticos<sup>26</sup> ya presentes en el paciente. La respuesta inflamatoria puede adquirir en ocasiones un carácter granulomatoso de tipo sarcoideo<sup>27</sup>.

**Dermatitis acantolítica tipo Grover o Darier.** Es una lesión frecuente con una incidencia del 27%<sup>2</sup>. La enfermedad de Grover aparece como dispersas lesiones en forma de un *rash* similar a la enfermedad de Grover idiopática y que afecta a brazos y tronco. No se aprecian diferencias histopatológicas respecto a la enfermedad de Grover surgida en otros contextos clínicos (fig.8).

**Paniculitis lobulillar.** Es una lesión muy inusual<sup>28,29</sup> que debuta clínicamente como nódulos subcutáneos dolorosos a menudo acompañados de fiebre y escalofríos. Se han descrito en relación con la asociación vemurafenib-dabrafenib, con inhibidores de la proteína MEK<sup>28</sup> o en relación con vemurafenib<sup>29</sup>. La presentación clínica puede simular una metástasis de melanoma<sup>30</sup>. La paniculitis, que aparece a los pocos meses de iniciado el tratamiento con inhibidores de la mutación *BRAF*, puede regresar a pesar del tratamiento o recidivar en forma de brotes<sup>31</sup>. Histopatológicamente se trata de un infiltrado neutrofílico predominantemente lobulillar aunque también se produce ligero edema e infiltración linfocitaria en los septos (fig.9). En ocasiones, pueden adquirir un carácter granulomatoso.



#### IV. CLAVES DIAGNÓSTICAS CLINICOPATOLÓGICAS DE LAS LESIONES MELANOCÍTICAS Y DE LA FOTOTOXICIDAD ASOCIADA AL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE LA MUTACIÓN BRAF

**Fototoxicidad.** La fototoxicidad es una lesión frecuente, pero no tiene aspectos anatomopatológicos especialmente relevantes. Esta lesión se manifiesta clínicamente como eritema y ampollas dolorosas en áreas fotoexpuestas, especialmente en relación con Vemurafenib.

**Nevus melanocíticos.** Se trata por lo general de cambios en nevus melanocíticos preexistentes, que pueden mostrar un carácter verrucoso, un cambio en la pigmentación<sup>32</sup> o el desarrollo de inflamación, como se ha indicado anteriormente. En ocasiones pueden aparecer nuevos nevus melanocíticos (fig. 10) que pueden desarrollar un carácter eruptivo. Patogénicamente, no se ha demostrado mutación del gen *BRAF*<sup>33</sup>.

**Melanoma.** Se ha publicado la aparición infrecuente de nuevos melanomas, de tipo extensión superficial<sup>11</sup>, durante el tratamiento con inhibidores de la mutación del gen *BRAF*<sup>33-35</sup>. No se ha demostrado mutación de los genes *NRAS* o *BRAF*<sup>11,33</sup>.

#### Tablas

Tabla 1. Lesiones cutáneas más frecuentes observadas en nuestra serie asociadas con inhibidores del gen BRAF mutado.

Lesiones	%
Queratosis verrucosa	43
Enfermedad de Grover	21
Hiperqueratosis folicular	16
Carcinoma escamoso	16
Hiperqueratosis plantar	11
Queratosis actínica	11
Fototoxicidad	16

Tabla 2. Ejemplos de combinaciones lesionales inusuales surgidas en el tratamiento del melanoma metastásico con inhibidores del gen BRAF mutado.

Caso	Lesiones cutáneas
1	Paniculitis septolobulillar Queratosis verrucosa múltiple Alopecia Hiperqueratosis palmo-plantar Quiste epidérmico múltiple Foliculitis hiperplásica, disqueratótica y perforante (multiplicidad lesional) en forma de rash generalizado Carcinoma escamoso múltiple, bien diferenciado y queratoacantomatoso Dermatitis de interfase de tipo liquenoide
2	Queratosis verrucosa Pseudolinfoma T Fotosensibilidad



<b>3</b>	Dermatitis tipo Grover Dermatitis crónica inespecífica Granuloma piógeno Siringoma vulvar y palpebral de comportamiento eruptivo Queilitis por fotosensibilidad
<b>4</b>	Quiste epidérmico cutáneo inflamado Carcinoma escamoso bien diferenciado Queratosis verrucosas múltiples Siringometaplasia escamosa ecrina

En resumen, las lesiones cutáneas asociadas a fármacos inhibidores de la proteína mutada del gen *BRAF* pueden clasificarse en quistes, lesiones proliferativas queratinocíticas, reacciones inflamatorias y alteraciones melanocitarias. Se trata de lesiones múltiples, con frecuencia combinadas entre sí, de rápido desarrollo y, en ocasiones, de carácter transitorio, a pesar de la continuidad del tratamiento. Las proliferaciones queratinocíticas afectan a la epidermis, a los infundíbulos pilosos o a los acrosiringios, con un espectro lesional amplio desde lo benigno a lo maligno, frecuentemente con rasgos mixtos entre verrugas vulgares, queratosis seborreicas y papilomas. Las lesiones malignas corresponden a CE poco agresivos con rasgos queratoacantomasos. Patogénicamente, estas lesiones muestran activación de la vía de las MAP quinasas, la mutación del gen *RAS* o la activación del gen *MEK*, pero no se detecta VPH. Las reacciones inflamatorias son por lo general inespecíficas y variadas, y pueden manifestarse como dermatitis de interfase, reacciones inflamatorias en torno a anejos cutáneos o paniculitis. Las alteraciones melanocitarias corresponden a cambios surgidos en lesiones melanocitarias preexistentes o al desarrollo de nuevas proliferaciones benignas o malignas del melanocito, por mecanismos patogénicos que todavía no han sido aclarados.

## Bibliografía

1. Mandalà M, Massi D, De Giorgi V. Cutaneous toxicities of BRAF inhibitors: clinical and pathological challenges and call to action. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013 Nov;88(2):318-37.
2. Anforth R, Fernandez-Peñas P, Long GV. Cutaneous toxicities of RAF inhibitors. *Lancet Oncol* 2013 Jan;14(1):e11-8.
3. Chu EY, Wanat KA, Miller CJ, Amaravadi RK, Fecher LA, Brose MS et al. Diverse cutaneous side effects associated with BRAF inhibitor therapy: a clinicopathologic study. *J Am Acad Dermatol* 2012 Dec;67(6):1265-72.
4. Sufficool KE, Hepper DM, Linette GP, Hurst EA, Lu D, Lind AC, Cornelius LA. Histopathologic characteristics of therapy-associated cutaneous neoplasms with vemurafenib, a selective BRAF kinase inhibitor, used in the treatment of melanoma. *J Cutan Pathol* 2014 Jul;41(7):568-75.
5. Mattei PL, Alora-Palli MB, Kraft S, Lawrence DP, Flaherty KT, Kimball AB. Cutaneous effects of BRAF inhibitor therapy: a case series. *Ann Oncol* 2013 Feb;24(2):530-7.
6. Anforth RM, Blumetti TC, Kefford RF, Sharma R, Scolyer RA, Kossard S, Long GV, Fernandez-Peñas P. Cutaneous manifestations of dabrafenib (GSK2118436): a selective inhibitor of mutant BRAF in patients with metastatic melanoma. *Br J Dermatol* 2012b Nov;167(5):1153-60.

7. Gazenmueller T, Hage E, Yakushko Y, Kluba J, Woltemate S, Schacht V, Schulz TF, Gutzmer R. No human virus sequences detected by next-generation sequencing in benign verrucous skin tumors occurring in BRAF-inhibitor-treated patients. *Exp Dermatol* 2013 Nov;22(11):725-9.
8. Anforth R, Tembe V, Blumetti T, Fernandez-Peñas P. Mutational analysis of cutaneous squamous cell carcinomas and verrucal keratosis in patients taking BRAF inhibitors. *Pigment Cell Melanoma Res* 2012a Sep;25(5):569-72.
9. Oberholzer PA, Kee D, Dziunycz P, Sucker A, Kamsukom N, Jones R, Roden C, et al. RAS mutations are associated with the development of cutaneous squamous cell tumors in patients treated with RAF inhibitors. *J Clin Oncol* 2012 Jan 20;30(3):316-21.
10. Su F, Viros A, Milagre C, Trunzer K, Bollag G, Spleiss O, Reis-Filho JS, Kong X, Koya RC, Flaherty KT, et al. RAS mutations in cutaneous squamous-cell carcinomas in patients treated with BRAF inhibitors. *N Engl J Med* 2012 Jan 19;366(3):207-15.
11. Rinderknecht JD, Goldinger SM, Rozati S, Kamarashev J, Kerl K, French LE, Dummer R, Belloni B. RASo-pathic skin eruptions during vemurafenib therapy. *PLoS One* 2013;8(3):e58721.
12. Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature* 2010 Mar 18;464(7287):431-5.
13. Lescoat A, Droitcourt C, Stock N, Le Gall F, Dupuy A. Vemurafenib-induced eccrine squamous syringo-metaplasia. *Dermatology* 2013;226(4):362-4.
14. Liuti F, Martín PA, Montenegro Damaso T, Abreu DR, Santana JH. Eccrine squamous syringometaplasia associated with dabrafenib therapy. *J Am Acad Dermatol* 2013 Nov;69(5):e273-4.
15. Story SG, Beschloss JK, Dolan CK, Thomas BC. Eccrine squamous syringometaplasia associated with vemurafenib therapy. *J Am Acad Dermatol* 2012 Nov;67(5):e208-10.
16. Merat R, Seyde O, Fernandez E, Kaya G. Multiple palpebral syringomas occurring after initiation of BRAF inhibition therapy in a patient with metastatic melanoma. *JAAD Case Rep.* 2016 Nov; 2(6): 482–484.
17. Ezra N, Hamid O, Behroozan D. Eruptive squamous cell carcinomas associated with BRAF-inhibitor therapy in a patient with metastatic melanoma. *Dermatol Surg* 2012 Jul;38(7 Pt 1):1086-90.
18. Lacouture ME, O'Reilly K, Rosen N, Solit DB. Induction of cutaneous squamous cell carcinomas by RAF inhibitors: cause for concern? *J Clin Oncol* 2012 Jan 20;30(3):329-30.
19. Harvey NT, Millward M, Wood BA. Squamoproliferative lesions arising in the setting of BRAF inhibition. *Am J Dermatopathol* 2012 Dec;34(8):822-6.
20. Arnault JP, Mateus C, Escudier B, Tomasic G, Wechsler J, Hollville E, et al. Skin tumors induced by sorafenib; paradoxical RAS-RAF pathway activation and oncogenic mutations of HRAS, TP53, and TGFBR1. *Clin Cancer Res* 2012 Jan 1;18(1):263-72.
21. Heidorn SJ, Milagre C, Whittaker S, et al. Kinase-dead BRAF and oncogenic RAS cooperate to drive tumor progression through CRAF. *Cell* 2010;140:209–21.

22. Wisler JA, Afshari C, Fielden M, Zimmermann C, Taylor S, Carnahan J, Vonderfecht S. Raf inhibition causes extensive multiple tissue hyperplasia and urinary bladder neoplasia in the rat. *Toxicol Pathol* 2011 Aug;39(5):809-22.
23. Falchook GS, Rady P, Hymes S, Nguyen HP, Tying SK, Prieto VG, Hong DS, Kurzrock R. Merkel cell polyomavirus and HPV-17 associated with cutaneous squamous cell carcinoma arising in a patient with melanoma treated with the BRAF inhibitor dabrafenib. *JAMA Dermatol* 2013 Mar;149(3):322-6.
24. Cohen DN, Lawson SK, Shaver AC, Du L, Nguyen HP, He Q, Johnson DB et al. Contribution of Beta-HPV Infection and UV-Damage to Rapid-onset Cutaneous Squamous Cell Carcinoma during BRAF-inhibition Therapy. *Clin Cancer Res*. 2015 Jun 1; 21(11): 2624–2634
25. Sinha R, Edmonds K, Newton-Bishop J, Gore M, Larkin J, Fearfield L. Erythema nodosum-like panniculitis in patients with melanoma treated with vemurafenib. *J Clin Oncol* 2013 Jul 1;31(19):e320-1.
26. Wimott JS, Long GV, Howle JR, et al. Selective BRAF inhibitors induce marked T-cell infiltration into human metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2012 Mar 1;18(5):1386-94.
27. Green JS, Norris DA, Wisell J. Novel cutaneous effects of combination chemotherapy with BRAF and MEK inhibitors: a report of two cases. *Br J Dermatol* 2013 Jul;169(1):172-6.
28. Zimmer L, Livingstone E, Hillen U, Dömkes S, Becker A, Schadendorf D. Panniculitis with arthralgia in patients with melanoma treated with selective BRAF inhibitors and its management. *Arch Dermatol* 2012a Mar;148(3):357-61.
29. Maldonado-Seral C, Berros-Fombella JP, Vivanco-Allende B, Coto-Segura P, Vazquez-Lopez F, Perez-Oliva N. 10.1111/cup.12346. Vemurafenib-associated neutrophilic panniculitis: An emergent adverse effect of variable severity. *Dermatol Online J* 2013 Apr 15;19(4):16.
30. Chaminade A, Conte H, Jouary T, Fauconneau A, Darrigade AS, Beylot-Barry M, Pham-Ledard A. BRAF inhibitors-induced panniculitis: a cutaneous side effect mimicking subcutaneous melanoma metastasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015 Feb;29(2):392-3.
31. Monfort JB, Pagès C, Schneider P, Neyns B, Comte C, Bagot M, Vignon-Pennamen MD, Viguier M, Lebbé C. Vemurafenib-induced neutrophilic panniculitis. *Melanoma Res* 2012 Oct;22(5):399-401.
32. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *New England Journal of Medicine* 2012;366:707–14.
33. Zimmer L, Hillen U, Livingstone E, Lacouture ME, Busam K, Carvajal RD, Egberts F, Hauschild A, Kashani-Sabet M, Goldinger SM, Dummer R, Long GV, McArthur G, Scherag A, Sucker A, Schadendorf D. Atypical melanocytic proliferations and new primary melanomas in patients with advanced melanoma undergoing selective BRAF inhibition. *J Clin Oncol* 2012b Jul 1;30(19):2375-83.
34. Dalle S, Poulalhon N, Debarbieux S, Thomas L. Second primary melanomas on treatment with vemurafenib. *Br J Dermatol* 2013 Apr;168(4):887-8.
35. Schmitt L, Schumann T, Inhoff O, Löser C, Rebel M, Dippel E. Eruptive Nevi Mimicking Wart-Like Lesions under Selective BRAF Inhibition in a 37-Year-Old Female Melanoma Patient. *Case Rep Dermatol* 2013 Mar 12;5(1):69-72.

## Figuras

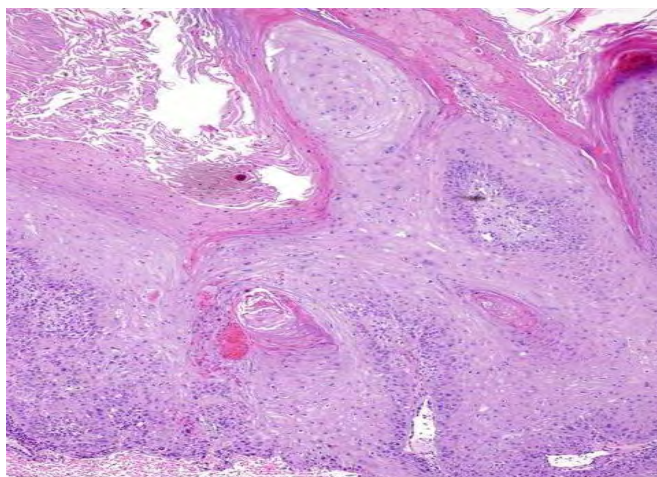


Figura 1. Queratosis verrucosa asociada a tratamiento con inhibidores de la mutación *BRAF* (H&E, x 40).

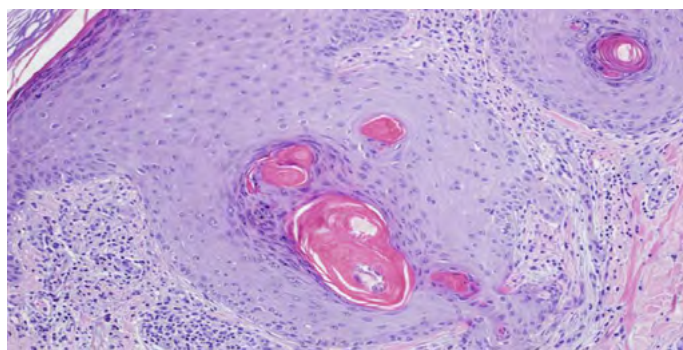


Figura 2. Folículo distorsionado por proliferación celular que muestra acúmulo de queratina en una mujer de 58 años tratada con inhibidores de *BRAF* mutado (H&E, x100 ).

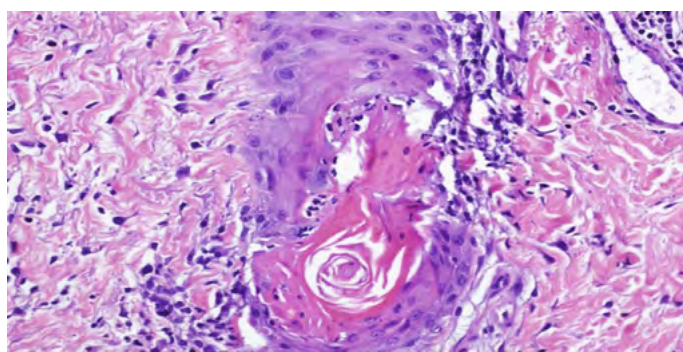


Figura 3. Siringometaplasia escamosa en un hombre de 45 años surgida tras cinco meses de tratamiento con inhibidores de *BRAF* mutado. (H&E, x200). La lesión desapareció espontáneamente a pesar de que se mantuvo el tratamiento con los inhibidores de *BRAF*.



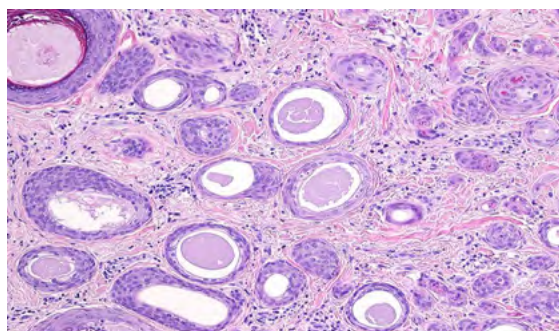


Figura 4. Siringoma vulvar de carácter eruptivo surgido sobre lesión preexistente en una mujer de 69 años que se produjo de forma inmediata tras el inicio del tratamiento con inhibidores de *BRAF*. Se mantuvo el tratamiento con inhibidores de *BRAF* mutado y las lesiones desaparecieron espontáneamente (H&E, x100).

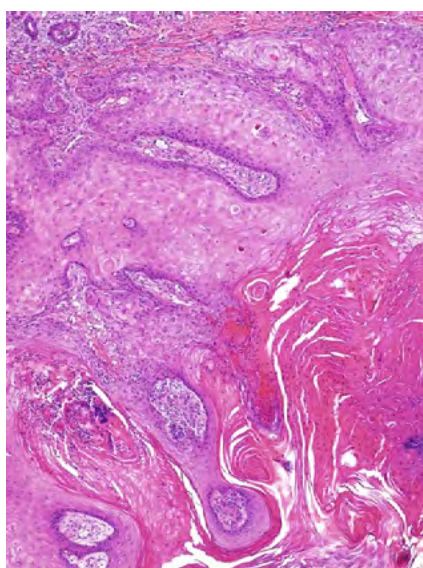


Figura 5. Carcinoma escamoso de tipo queratoacantomatoso como parte de un complejo lesional cutáneo asociado a inhibidores de *BRAF* mutado (H&E,x100).

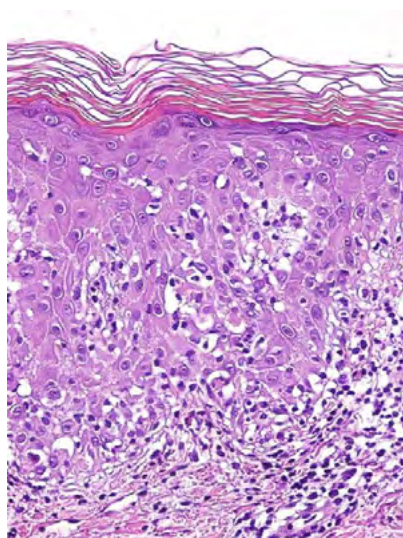


Figura 6. Dermatitis de interfase de tipo liquenoide en una mujer de 55 años que surgió a las dos semanas de tratamiento con inhibidores de *BRAF* mutado (H&E, x200).

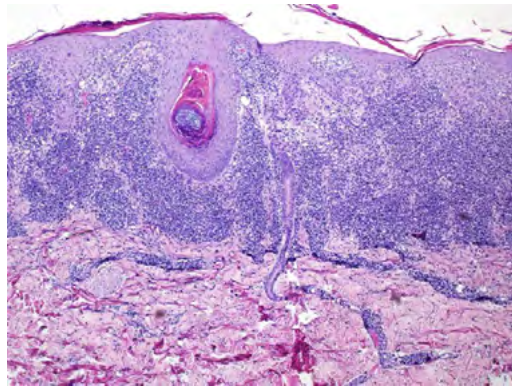


Figura 7. Hiperplasia linfoide surgida en un hombre de 53 años a los ocho meses del inicio del tratamiento con inhibidores de *BRAF*. Se aprecia un denso infiltrado linfoide en dermis superficial y reticular en relación con una epidermis hiperplásica y con folículos distorsionados con acúmulo de queratina (H&E, x 100). La lesión desapareció espontáneamente aunque persistió el tratamiento con inhibidores de *BRAF* mutado.

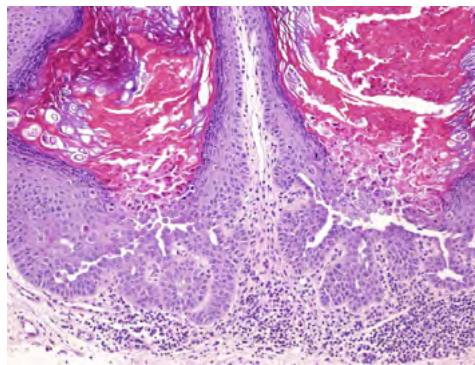


Figura 8. Dermatitis acantolítica transitoria en el contexto de tratamiento por inhibidores de la mutación *BRAF* (H&E,x100).

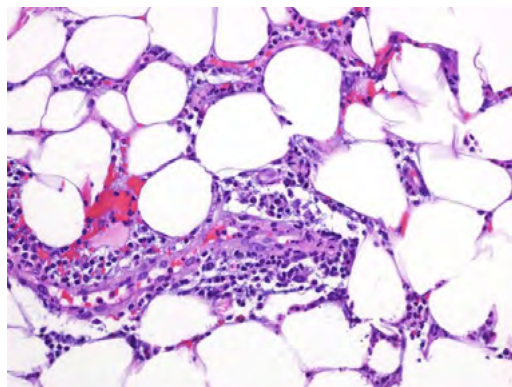


Figura 9. Panniculitis lobulillar en una mujer de 58 años que surgió a los dos meses de iniciado el tratamiento con inhibidores de *BRAF* mutado. La lesión persistió a pesar de la reducción de la dosis del inhibidor. (H&E,x200).

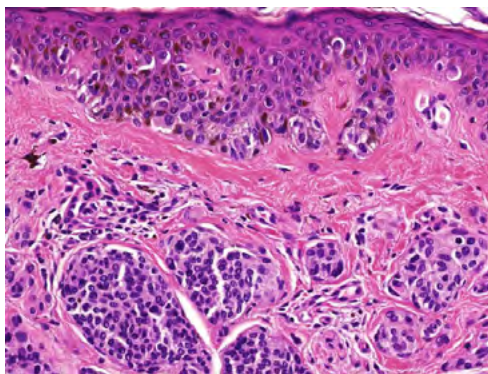


Figura 10. Nevus melanocítico mixto que surgió a los dos meses de tratamiento con inhibidores de *BRAF* mutado. (H&E, x200).





# Guía práctica para el estudio e informe anatomopatológico del carcinoma de células de Merkel

Carolina Manzotti, Sara Pabón Guerrero, Juan J Ríos Martín  
Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

## I. INTRODUCCIÓN

El carcinoma de células de Merkel (CCM) (carcinoma neuroendocrino de la piel, tumor de Toker o carcinoma trabecular), descrito por Toker en 1972, es una neoplasia muy agresiva, con alta tasa de recidiva local y capacidad de metastatizar. La tasa de mortalidad es superior a la del melanoma y la de supervivencia a los 5 años es del 30-64%.

*Datos epidemiológicos:* es más frecuente en la séptima década de la vida (solo un 5% de casos en menores de 50 años, siendo excepcional en niños), con cierta predisposición por varones. Afecta principalmente zonas fotoexpuestas de personas de raza caucásica. Las localizaciones más frecuentes son la región de cabeza y cuello seguida por las extremidades y el tronco.

La incidencia es baja ( $0,31 \times 10^5$  en España) aunque en los últimos años está en aumento, probablemente en relación con el envejecimiento poblacional y con la mejora diagnóstica con el uso de técnicas inmunohistoquímicas.

*Etiología:* Se postula una etiología multifactorial que comprende:

- Daño cutáneo actínico por exposición a rayos UV.
- Estados de inmunodeficiencia (mayor riesgo en pacientes con SIDA, trasplantados recientes o con tratamientos inmunosupresores así como en enfermedades crónicas como LLC, mieloma múltiple o LNH).
- Poliomavirus de células de Merkel (MCPyV). En 2008 se identificó por primera vez la integración clonal del virus con las células del CCM; mediante IHQ y PCR se puede hallar el virus en un 80% de los casos.
- Alteraciones cromosómicas: se ha detectado delección del brazo corto del cromosoma 1p35-36, trisomía 6, pérdida de la capacidad heterocigota en el cromosoma 3p21, pérdida total o parcial del cromosoma 10 y mutaciones en el cromosoma 4.

## II. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

El CCM es raramente sospechado clínicamente y generalmente el patólogo recibe la biopsia o pieza quirúrgica para descartar otro tipo de neoplasias.

Suelen ser lesiones nodulares dérmicas, indoloras, induradas y de coloración eritemato-violácea, con un crecimiento rápido en semanas o pocos meses. Puede presentar lesiones satélites debido a la infiltración de

vasos linfáticos dérmicos. Se han descrito casos aislados de CCM en la mucosa oral y nasal, el canal auricular, la vulva y el pene, localizaciones que probablemente impliquen peor pronóstico.

Para resumir las características clínicas principales del CCM se utiliza el acrónimo AEIOU: Asintomático, rápidamente Expansivo, Inmunosupresión, mayores (Older) de 50 años y exposición UV en pieles claras.

### III. DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

*Extirpación quirúrgica:* tras una biopsia cutánea diagnosticada de CCM se recomienda la extirpación quirúrgica completa de la lesión, dejando entre 1 y 3 cm de margen quirúrgico con la intención de eliminar posibles metástasis satélites microscópicas, además de asegurar unos bordes de resección libres de tumor primario. La posibilidad de complicaciones funcionales posquirúrgicas en las regiones de cabeza y cuello justifica la realización de cirugía micrográfica de Mohs seguida de RT para minimizar el riesgo de recidiva local.

*Evaluación microscópica:* neoplasia dérmica mal delimitada, en las que normalmente se identifica una zona *grenz* que la separa de la epidermis, con extensión a la hipodermis. En ocasiones existe diseminación intraepidérmica. Está compuesta por una población monomorfa de células pequeñas, redondas y azules con escaso citoplasma de contorno poco definido. En ocasiones son fusiformes. Los núcleos son claros, vesiculares, indentados o lobulados, con nucléolo pequeño o ausente y cromatina granular que le confiere un aspecto "en sal y pimienta". Es frecuente observar mitosis, cuerpos apoptóticos, áreas de necrosis e infiltrado linfoide.

*Subtipos histológicos:*

- Patrón trabecular: es el menos frecuente; está constituido por trabéculas de células uniformes.
- Patrón de células intermedias: es el más común; constituido por nódulos o sábanas difusas de células que disecan las fibras de colágeno.
- Patrón de células pequeñas: presenta un infiltrado difuso de células hiper cromáticas tipo "oat cell". Ocasionalmente se aprecian áreas de diferenciación ductal, escamosa, sarcomatosa o melanocítica.

Se han descrito casos de remisión completa espontánea del CCM tras la realización de una biopsia, postulándose una inducción tras la misma de una respuesta antitumoral mediada por linfocitos T.

*Estudio Inmunohistoquímico*

**Marcadores positivos:**

- Marcadores epiteliales: citoqueratinas (AE1/AE3, CK20, CAM 5.2), antígeno de membrana epitelial y Ber-Ep4. Es característico el patrón en gota paranuclear con CK20 (97% de CCM).
- Marcadores neuroendocrinos: sinaptofisina, cromogranina A y CD56.

**Marcadores negativos:**

- S100 y HMB-45: útil en el diagnóstico diferencial con melanomas.
- Antígeno leucocitario común (CD45): diagnóstico diferencial con linfomas cutáneos.
- CK7 y CEA: a diferencia de los carcinomas de glándulas sudoríparas
- TTF-1: útil en el diagnóstico diferencial con metástasis de carcinoma de células pequeñas del pulmón (positivo en el 83% al 100% de casos).

**Marcadores pronósticos:**

- La expresión de p63, survivina y un elevado índice de proliferación (Ki-67) se relacionan con un peor pronóstico
- La expresión de CD44 podría indicar un mayor potencial de metástasis
- La proteína de interacción de Huntington 1 (HIP1) se sobreexpresa en el 90% de los CCM por lo que se ha postulado que podría servir como marcador de elevada sensibilidad para la detección de metástasis.

**Otros marcadores:**

- CD117, péptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P, polipéptido pancreático, somatostatina, calcitonina, ACTH, TdT, PAX-5, Glipican-3, BCL-2, CD57 y CD99 pueden ser positivos.

La detección de MCPyV se puede realizar mediante PCR o con inmunotinción con CM2B4, CM5E1 y Ab3.

#### IV. INFORME ANATOMOPATOLÓGICO

Debe incluir aquellos datos que determinan el estadiaje y modifican por tanto las pautas de tratamiento y seguimiento del paciente; además se recomienda incluir otros datos que podrían influir en el pronóstico final.

*Datos obligatorios:*

- Tamaño tumoral
- Afectación de los márgenes laterales y profundo
- Invasión linfovascular
- Extensión extracutánea a la fascia muscular, músculo, hueso o cartílago.

*Datos recomendados:*

- Espesor del tumor en profundidad
- Patrón de crecimiento (trabecular, nodular/difuso; de células pequeñas)
- Índice de mitosis
- Infiltrado inflamatorio linfocitario

#### V. FACTORES PRONÓSTICOS

Factores clínicos desfavorables:

- Sexo masculino
- Edad avanzada (>75 años)
- Localización en la cabeza y cuello o el tronco
- Tamaño tumoral
- Presencia de inmunosupresión.

Marcadores histológicos de mal pronóstico:

- Grosor mayor de 5mm
- Patrón de crecimiento infiltrativo difuso
- Invasión linfovascular y del tejido subcutáneo.

La afectación o no de los ganglios linfáticos se considera el predictor independiente más importante, por lo que resulta necesaria la evaluación histológica del ganglio centinela

#### VI. EVALUACIÓN DEL GANGLIO CENTINELA

La biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) es importante para la determinación del estadio y la valoración del mejor tratamiento del CCM. Se aconseja realizar la BSGC en todos los CCM, independientemente del tamaño del mismo, y llevarla a cabo en el momento de la extirpación quirúrgica de la neoplasia, cuando los canales linfáticos están todavía intactos. La utilización de técnicas IHQ (CK20) mejora notablemente la detección de micrometástasis en relación con la evaluación con HE, por lo que se aconseja realizarla de forma rutinaria en la valoración del ganglio centinela.

Un 56% de los casos con BSGC (+) presentan recurrencias frente a un 39% de los BSGC (-) por lo que identificar a los pacientes con metástasis microscópicas ganglionares permite realizar la disección ganglionar y/o RT, maximizando el control de la enfermedad regional.

#### VII. ESTADIAJE

El sistema utilizado internacionalmente para la estadificación del CCM es el recomendado por la AJCC.

La 8ª edición de la AJCC (actualizada en 2017) divide el CCM en diferentes estadios basados en el tamaño del tumor primario (mayor o menor de 2 cm) y la extensión de la enfermedad (afectación de ganglios linfáticos o metástasis a distancia). Así mismo diferencia si el diagnóstico es clínico o se ha realizado mediante el estudio histopatológico.

Grupos de estadio clínico (cTNM) <sup>a</sup>				Grupos de estadio patológico (pTNM) <sup>b</sup>			
	T	N	M		T	N	M
<b>0</b>	Tis	N0	M0	0	Tis	N0	M0
<b>I</b>	T1	N0	M0	I	T1	N0	M0
<b>IIA</b>	T2-3	N0	M0	IIA	T2-3	N0	M0
<b>IIB</b>	T4	NO	M0	IIB	T4	N0	M0
<b>III</b>	T0-4	N1-3	M0	IIIA	T1-4	N1a(sn) o N1a	M0
					T0	N1b	M0
				IIIB	T1-4	N1b-3	M0
<b>IV</b>	T0-4	Cualquier N	M1	IV	T0-4	Cualquier N	M1

<sup>a</sup> El estadiaje clínico se define por el microestadiaje del CCM primario con evaluación clínica o radiológica de metástasis.

<sup>b</sup> El estadiaje patológico se define por el microestadiaje del CCM primario y la evaluación histológica de los ganglios linfáticos regionales mediante biopsia del ganglio centinela o linfadenectomía completa o confirmación patológica de metástasis a distancia.

T	N		M
<b>T<sub>x</sub></b> , tumor primario no evaluado	<b>cN<sub>x</sub></b> , ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados clínicamente (por ej. removidos previamente por otra causa, hábito corporal)	<b>pN<sub>x</sub></b> , ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados (por ej. removidos previamente por otra causa) o no removidos para evaluación patológica	<b>M0</b> , sin metástasis a distancia
<b>T0</b> , ausencia de tumor primario	<b>cN0</b> , sin metástasis de ganglios linfáticos regionales por evaluación clínica o radiológica.	<b>pN0</b> , sin metástasis ganglionares detectadas en valoración patológica	<b>M1</b> , metástasis a distancia
<b>T<sub>is</sub></b> , tumor primario in situ	<b>cN1</b> , metástasis de ganglios regionales detectada clínicamente	<b>pN1a(sn)</b> , metástasis ganglionar oculta clínicamente, identificada por biopsia de ganglio centinela	<b>M1a</b> , metástasis en piel a distancia, tejido subcutáneo a distancia o ganglios linfáticos a distancia.
<b>T1</b> , tumor primario ≤2 cm	<b>cN2</b> , metástasis en tránsito sin metástasis ganglionares	<b>pN1a</b> , metástasis ganglionar regional oculta clínicamente, identificada tras disección ganglionar	<b>M1b</b> , pulmón
<b>T2</b> , tumor primario >2 cm pero ≤5cm	<b>cN3</b> , metástasis en tránsito con metástasis de ganglios linfáticos	<b>pN1b</b> , metástasis ganglionar regional detectada clínica o radiológicamente y confirmada patológicamente	<b>M1c</b> , otros sitios a distancia.
<b>T3</b> , tumor primario >5 cm		<b>pN2</b> , metástasis en tránsito sin metástasis de ganglios linfáticos	
<b>T4</b> , tumor primario que invade la fascia, músculo, cartílago o hueso		<b>pN3</b> , metástasis en tránsito con metástasis de ganglios linfáticos	

## Bibliografía

1. Toker C. Trabecular carcinoma of the skin. *Arch Dermatol* 1972; 105: 107-10.
2. Lebbe C, Becker JC, Grob JJ, et al. Diagnosis and treatment of Merkel Cell Carcinoma. European consensus-based interdisciplinary guideline. *Eur J Cancer* 2015; 51:2396-403.
3. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Merkel Cell Carcinoma, Version 1. 2017.
4. McKee PH, Calonje E, Lazar A, Brenn T, eds. *McKee's Pathology of the Skin with Clinical Correlations*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012.
5. American Joint Committee on Cancer. *Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.
6. Harms K, Healy M, Nghiem P, et al. Analysis of prognostic factors from 9387 Merkel cell carcinoma cases forms the basis for the new 8th edition AJCC staging system. *Ann Surg Oncol* 2016; 23:3564-71
7. Moghaddam A, Cornejo KM, Hutchinson L, et al. Complete Spontaneous Regression of Merkel Cell Carcinoma after Biopsy: A Case Report and Review of Literature. *Am J Dermatopathol* 2016; 38:154-158.
8. PDQ® Adult Treatment Editorial Board. PDQ Merkel Cell Carcinoma Treatment. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Updated 04/09/2015. Available at: <http://www.cancer.gov/types/skin/hp/merkel-cell-treatment-pdq>. Accessed 12/11/2016. [PMID: 26389158]
9. Llombart B, Requena C, Cruz J. Actualización en el carcinoma de células de Merkel: Epidemiología, etiopatogenia, clínica, diagnóstico y estadificación. *Actas Dermosifiliogr* 2016; doi: 10.1016/j.ad.2016.07.022
10. Berrios C, Padi M, Keibler MA et al. Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Promotes Pro-Glycolytic Metabolic Perturbations Required for Transformation. *PLoS Pathog* 2016; 12:e1006020.
11. Andea AA, Coit DG, Amin B et al. Merkel Cell Carcinoma: histologic features and prognosis. *Cancer* 2008; 113:2549-58.



# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE LINFOMAS DE LA SEAP

*Coordinador: Santiago Montes Moreno (smontes@humv.es)*





# 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 Linfomas (GOTEL).**

**Grupo de trabajo: Santiago Montes Moreno<sup>1</sup>, Manuela Mollejo Villanueva<sup>2</sup>, Máximo Fraga<sup>3</sup>, Juan Fernando García<sup>4</sup>, José Luis Villar<sup>5</sup>, Antonio Martínez<sup>6</sup>, Socorro María Rodríguez Pinilla<sup>7</sup>, Empar Mayordomo Aranda<sup>8</sup>, Ana Batlle<sup>9</sup>, Mariano Provencio Pulla<sup>10</sup>, María Rozmán<sup>6</sup>, Ramón García Sanz<sup>11</sup>.**

1. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander, España.
2. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, España.
3. Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela, España.
4. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital MD Anderson, Madrid, España.
5. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla, España.
6. Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic, Barcelona, España.
7. Servicio de Anatomía Patológica, Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España.
8. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España.
9. Unidad de Citogenética Hematológica, Servicio de Hematología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander, España.
10. Servicio de Oncología Médica, Hospital Puerta de Hierro, Madrid, España.
11. Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

*Segunda edición. Esta guía se publicará en Mayo de 2017. La actualización de la misma se espera en Mayo de 2019.*

*Descargo de responsabilidad y potenciales conflictos de interés: 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

<b>CAPÍTULO 1: GUÍA GENERAL</b> .....	<b>67</b>
a. INTRODUCCIÓN. Justificación del documento guía. ....	67
b. OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO HEMATOPATOLÓGICO. ..	69
c. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO. ....	73
d. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO. APLICACIÓN DEL INMUNOFENOTIPADO DE NEOPLASIAS LINFOIDES. ....	75
e. ESTUDIO CITOGÉNÉTICO/FISH. ....	79
f. ESTUDIO MOLECULAR. ....	86
Análisis de clonalidad linfoide mediante PCR. Determinaciones moleculares de utilidad diagnóstica.	
g. INFORME DIAGNÓSTICO .....	94
 <b>GUÍAS ESPECÍFICAS DE CADA ENFERMEDAD</b>	
<b>CAPÍTULO 2: Linfomas B no Hodgkin.</b> .....	<b>96</b>
a. Linfomas B indolentes: SLL/CLL, B-PLL, LPL, MZL (SMZL, MALT, NMZL), FL, otros (HCL, esplénicos inclasificables). ....	96
b. Linfomas B agresivos: LB, LBDCG, LCM. Linfomas B de alto grado (DH/TH, NOS). ....	124
c. Plasmocitoma /MM. ....	138
 <b>CAPÍTULO 3: Linfomas de Hodgkin.</b> .....	<b>141</b>
 <b>CAPÍTULO 4: Linfomas T y T/NK.</b> .....	<b>145</b>
a. Leucemia/Linfoma linfoblástico T (y B). ....	145
b. Linfomas T ganglionares: linfoma de células T periférico (NOS), linfomas ganglionares de células T con fenotipo follicular helper y linfoma de células grandes T anaplásico ALK+ y ALK- .....	148
c. Leucemia de linfocitos grandes granulares, leucemia prolinfocítica, linfoma hepatoesplénico, leucemias NK, linfomas enteropáticos y síndromes linfoproliferativos T pediátricos asociados a EBV. ....	157
 <b>CAPÍTULO 5: Linfomas primariamente cutáneos.</b> .....	<b>163</b>
 <b>CAPÍTULO 6: Neoplasias de células histiocíticas y de células dendríticas.</b> .....	<b>171</b>

## CAPÍTULO 1: GUÍA GENERAL

### 1a. INTRODUCCIÓN

Autor para la correspondencia: *Santiago Montes Moreno. [smontes@humv.es](mailto: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 se validen 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, según la clasificación vigente, de la OMS y su aplicación cotidiana (4, 5).

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). Existen toda una serie de marcadores biológicos clínicos (por ejemplo edad del paciente y estadificación), esenciales 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 linfóide.

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.

#### 1. MÉTODO DE GENERACIÓN DE LAS GUÍAS

Un grupo de ocho hematopatólogos expertos (Santiago Montes Moreno, Juan Fernando García, Manuela Mollejo Villanueva, Máximo Fraga, Antonio Martínez, María Rodríguez Pinilla, Jose Luis Villar, Empar Mayor-domo Aranda), tres hematólogos especialistas en diagnóstico hematológico (Ramón García Sanz, María

Rozmán y Ana Batlle) y un médico oncólogo especialista en patología hematolinfoide (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.
IIa	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 IIa, 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. España2013.
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, <https://www.nccn.org/>. v1, 2017 ed2017.

4. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Press I, editor 2008.
5. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.

## 1b. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO HEMATOPATOLÓGICO.

Autor para la correspondencia: Santiago Montes Moreno. [smontes@humv.es](mailto: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, 2), 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 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 linfocítica 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 de punción obtenidas mediante EBUS (ecobroncoscopia) 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/laparotomía 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 (biopsia con aguja gruesa )-trucut**.

**2. 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 (3)**. **No obstante puede ser suficiente para establecer un diagnóstico de recidiva(4-8)**. 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, 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(9)).

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(3). 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(3). 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(3). 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 (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 C, nivel de evidencia IV).**
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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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. (Grado C, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia IV).
7. El estudio citogenético de elección en muestras de tejido o improntas es FISH. (Grado C, nivel de evidencia IV).
8. En la mayoría de los casos de proceso linfoproliferativo (aquellos 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. (Grado C, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2375-90.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Jeffers MD, Milton J, Herriot R, McKean M. Fine needle aspiration cytology in the investigation on non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol*. 1998 Mar;51(3):189-96.
8. 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.



9. 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.

## 1c ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE TEJIDOS HEMATOLINFOIDES

Autor para la correspondencia: *Máximo Fraga* ([maximo.fraga@usc.es](mailto: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 suelen ser necesarios estudios adicionales, 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.

## 5. REFERENCIAS

1. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla-Martínez L. Hematopathology. Second Edition. Saunders, 2017.
2. O'Malley DP, George TI, Orazi 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.

## 1d. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO. APLICACIÓN DEL INMUNOFENOTIPADO DE NEOPLASIAS LINFÓIDES.

Autor para la correspondencia: Antonio Martínez ([ANTONMAR@clinic.ub.es](mailto: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 castelman multicéntrico y es el subtipo de cadena pesada en el linfoma linfoplasmacítico cuando este se presenta como enfermedad de Waldstrom. 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.

#### **DIAGNÓSTICO 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 linfocitoide B versus T y otras (Hodgkin, mielocitoide o histiocítico/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 plasmablastoide, 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 linfocitoides 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 inmunofenotipado. 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 linfoplasmácítico en las que de forma constante se observa una marcada diferenciación secretora en el tumor.

### DIAGNÓSTICO 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 TRANSCRIPCIÓN

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

Múltiple 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 TERAPEUTICAS**

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 PRONOSTICOS**

### **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](http://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](http://www.e-immunohistochemistry.info)
2. [www.seap.es/calidad](http://www.seap.es/calidad)
3. [www.nordiqc.org](http://www.nordiqc.org)
4. [www.proteinatlas.org](http://www.proteinatlas.org)
5. [http://www.ihcworld.com/general\\_IHC.htm](http://www.ihcworld.com/general_IHC.htm)

## 1e. ESTUDIO CITOGENÉTICO-FISH

*Autor para la correspondencia: Ana Batlle López (anabattlelopez@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 linfoides:** 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-inmunoquímica 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"> <li>• Da información de todo el genoma.</li> <li>• Proporciona información global del genoma</li> <li>• Coste medio-bajo</li> </ul>	
LIMITACIONES	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se necesitan metafases (células en división)</li> <li>• Se requiere buena calidad de las metafases para realizar un estudio citogenético concluyente.</li> <li>• No detecta cambios genéticos crípticos (&lt;5Mb).</li> <li>• No permite la identificación de cromosomas marcadores y de las anomalías complejas.</li> <li>• Baja sensibilidad</li> </ul>	

### 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 B de alto grado, 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 B de alto grado, 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**

- 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**

- 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 CITOGENÉTICO**

**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.

**1f. ESTUDIO MOLECULAR.**

Autor para la correspondencia: Santiago Montes Moreno. [smontes@humv.es](mailto:smontes@humv.es)

**1. DEFINICIÓN:**

Se incluyen aquí técnicas de detección de alteraciones genéticas 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO**

Las técnicas de análisis molecular persiguen la detección de alteraciones en el ADN, esencialmente mutaciones 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 de calidad 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 la mutación L265P de MYD-88.

Estudio de las mutaciones en la vía MAPK.

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, per se, 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 IgH VH-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 $\beta$ -J $\beta$ , TCRB D $\beta$ -J $\beta$  (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).

#### 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 Waldstrom, 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)(4-6). No se encuentra en casos de mieloma múltiple. Asimismo se encuentra en un porcentaje apreciable de casos de LBDCG NOS, especialmente de tipo ABC(7, 8) y la variante de Linfoma B difuso de célula grande de tipo piernas ("leg type")(9, 10), linfoma B de célula grande primario testicular y Linfoma B difuso de célula grande primario cerebral(11). La mutación MYD88/L265P se puede encontrar asociada a mutaciones somáticas en CD79B, mutaciones o ganancias de CARD11 y mutaciones o deleciones de A20 en LBDCG(12). El efecto pronóstico independiente de la mutación MYD88/L265P en LBDCG es controvertido. La presencia de la combinación MYD88/L265P y CD79Bwt se asocia con peor respuesta a terapia y peor pronóstico al menos en dos series clínicas con diferentes esquemas terapéuticos(12, 13).

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(14) de modo que su presencia apoya el diagnóstico de LPL en casos de linfoma B de bajo grado clasificable.

El estudio de mutaciones de MYD88 se puede realizar con técnicas de secuenciación directa Sanger convencional (sensibilidad ~ 10%) o PCR cuantitativa convencional o alelo específica (sensibilidad ~ 1%) (5), así como metodologías basadas en NGS (de *Next Generation Sequencing*)(12).

#### Estudio de las mutaciones en la vía MAPK (BRAF-V600E, MAP2K1).

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) (15-17). Asimismo se ha encontrado en histiocitosis de células de Langerhans (~60%), sarcoma histiocítico (~60%) y en la enfermedad de Erdheim-Chester (~60%)(18-21). Esta mutación es un potencial marcador de terapia dirigida en LCP y procesos histiocitarios(22, 23).

El estudio de la mutación de BRAFV600E se puede realizar con técnicas de Sanger convencional (sensibilidad ~ 10%), pirosecuenciación (sensibilidad ~ 5%)(24), PCR cuantitativa convencional o alelo específica (sensibilidad ~ 1%)(25), así como metodologías basadas en NGS (de *Next Generation Sequencing*)(26).

Existe asimismo un anticuerpo específico de la mutación (clon VE1) que es válido en muestras FFIP, incluso tras procesos de decalcificación(19, 27).

La presencia de mutaciones en MAP2K1 (MEK1) se da en ~20% de los casos de histiocitosis de células de Langerhans y enfermedad de Erdheim Chester(28). Se recomienda tratar de identificar las mutaciones en BRAFV600E y MAP2K1 en aquellos casos con histiocitosis de tipo L y un diagnóstico impreciso y en los pacientes con fallo a la terapia de primera línea(28). Estas mutaciones en MAP2K1 se encuentran asimismo en ~50% de los casos de tricoleucemia variante(29) y ocasionalmente (~10%) en casos diagnosticados como linfoma B difuso de la pulpa roja esplénica(30).

#### 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 somáticas derivadas de los estudios de secuenciación masiva.



El análisis de perfiles de expresión génica ha permitido identificar las dos variantes moleculares del LB-DCG (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(31). Existen, hasta la fecha, varios modelos pronósticos basados en la expresión de grupos seleccionados de estos genes que contienen 100(32), 27(33) o 15(34) 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 ARN extraído de tejido FFIP(34, 35). 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(36, 37). 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 con potencial aplicación en la selección de terapia o pronósticos. En la tabla 1 se resumen las principales alteraciones somáticas descritas hasta la fecha con una potencial utilidad clínica.

**Tabla 1: Alteraciones somáticas en linfoma.**

Patología	Alteracion genetica recurrente	Ref.
Leucemia linfocitica cronica B/ linfoma B linfocitico de celula pequeña	Mutaciones somaticas en TP53, NOTCH1, ATM, SF3B1.	38-40
Linfoma B linfoplasmacitico/enfermedad de Waldstrom	Mutaciones somaticas en MYD88 (L265P), CXCR4.	4-6, 41
Tricoleucemia	Mutaciones somaticas en BRAF (V600E)	15
Tricoleucemia variante.	Mutaciones somaticas en MAP2K1	29
Linfoma B difuso de la pulpa roja esplénica.	Mutaciones somaticas en MAP2K1, p53, NOTCH2, cyclinD3.	30, 42, 43
Linfoma B esplénico de la zona marginal	Mutaciones somaticas en NOTCH2, KLF2, TNFAIP3, MLL2, MYD88, TP53	44-46
Linfoma B folicular	Mutaciones somaticas en MLL2, EZH2, CREBBP, EP300. Mutaciones somaticas en MAP2K1 y TNFRSF14 en el LF tipo pediátrico	47-49
Linfoma B de células del manto	Mutaciones somaticas en ATM, CCDN1, MLL2, TP53, BIRC3, WHSC1.	50-51
Linfoma B difuso de celula grande NOS	Mutaciones somaticas en MYD88, CD79B, CARD11	49, 52, 53
Linfoma de Burkitt	Reordenamientos aislados de MYC, Mutaciones somaticas en MYC, ID3, GNA13, TP53, SMARCA4	54
Linfoma B de alto grado DH/TH	Reordenamientos de MYC, BCL2 y/o BCL6.	55
Leucemia de células T grandes granulares	Mutaciones somaticas en STAT3 y STAT5B	56-59
Linfoma T hepatoesplénico		
Linfoma T/NK		
Micosis Fungoide	Mutaciones somaticas en PLCG1, CD28, RhOA	60, 61



Patología	Alteracion genetica recurrente	Ref.
Linfomas T con fenotipo T folicular (LTAI y equivalentes)	Mutaciones somaticas en RHOA, TET2, IDH2, DNM-T3A, CD28, PLCG1	62
Linfoma T anaplasico	Reordenamientos de ALK. Reordenamientos de DUSP22 y p63 en Linfoma T anaplasico ALK-	63
Histiocitosis del grupo L (de células de Langerhans, ECD)	Mutaciones somaticas en BRAF (V600E), Mutaciones somaticas en MAP2K1	28

## 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia IV).
5. 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 inclasificable. (Grado B, nivel de evidencia III).
6. Realizar estudio de mutaciones en la via de MAPK (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. 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.

5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Fernandez-Rodriguez C, Bellosillo B, Garcia-Garcia M, Sanchez-Gonzalez B, Gimeno E, Vela MC, et al. MYD88 (L265P) mutation is an independent prognostic factor for outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2014 Oct;28(10):2104-6.
12. Dubois S, Viailly PJ, Bohers E, Bertrand P, Ruminy P, Marchand V, et al. Biological and clinical relevance of associated genomic alterations in MYD88 L265P and non-L265P mutated diffuse large B-cell lymphoma: analysis of 361 cases. *Clin Cancer Res*. 2016 Dec 06.
13. Wilson WH, Young RM, Schmitz R, Yang Y, Pittaluga S, Wright G, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med*. 2015 Aug;21(8):922-6.
14. 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.
15. Tiacci 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.
16. Trifa AP, Popp RA, Cucuianu A, Coada 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.
17. 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.

18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. Olson MT, Harrington C, Beierl K, Chen G, Thies M, O'Neill A, et al. BRAF pyrosequencing analysis aided by a lookup table. *Am J Clin Pathol*. 2014 May;141(5):639-47.
25. Tiacci 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.
26. Singh RR, Patel KP, Routbort MJ, Reddy NG, Barkoh BA, Handal B, et al. Clinical validation of a next-generation sequencing screen for mutational hotspots in 46 cancer-related genes. *J Mol Diagn*. 2013 Sep;15(5):607-22.
27. 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.
28. Emile JF, Ablu O, Fraitag S, Horne A, Haroche J, Donadieu J, et al. Revised classification of histiocytoses and neoplasms of the macrophage-dendritic cell lineages. *Blood*. 2016 Jun 02;127(22):2672-81.
29. Matutes E, Martinez-Trillos A, Campo E. Hairy cell leukaemia-variant: Disease features and treatment. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2015 Dec;28(4):253-63.
30. Martinez D, Navarro A, Martinez-Trillos A, Molina-Urra R, Gonzalez-Farre B, Salaverria I, et al. NOTCH1, TP53, and MAP2K1 Mutations in Splenic Diffuse Red Pulp Small B-cell Lymphoma Are Associated With Progressive Disease. *Am J Surg Pathol*. 2016 Feb;40(2):192-201.
31. 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.

32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. Scott DW, Mottok A, Ennishi D, Wright GW, Farinha P, Ben-Neriah S, et al. Prognostic Significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cell of Origin Determined by Digital Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Biopsies. *J Clin Oncol*. 2015 Sep 10;33(26):2848-56.
36. 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.
37. 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.
38. Nadeu F, Delgado J, Royo C, Baumann T, Stankovic T, Pinyol M, et al. Clinical impact of clonal and subclonal TP53, SF3B1, BIRC3, NOTCH1, and ATM mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2016 Apr 28;127(17):2122-30.
39. Landau DA, Carter SL, Stojanov P, McKenna A, Stevenson K, Lawrence MS, et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell*. 2013 Feb;152(4):714-26.
40. Rossi D, Khiabani H, Spina V, Ciardullo C, Brusca A, Fama R, et al. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014 Apr 3;123(14):2139-47.
41. Treon SP, Cao Y, Xu L, Yang G, Liu X, Hunter ZR. Somatic mutations in MYD88 and CXCR4 are determinants of clinical presentation and overall survival in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood*. 2014 May 1;123(18):2791-6.
42. Curiel-Olmo S, Mondejar R, Almaraz C, Mollejo M, Cereceda L, Mares R, et al. Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma displays increased expression of cyclin D3 and recurrent CCND3 mutations. *Blood*. 2017 Jan 09.
43. Traverse-Glehen A, Verney A, Gazzo S, Jallades L, Chabane K, Hayette S, et al. Splenic diffuse red pulp lymphoma has a distinct pattern of somatic mutations amongst B-cell malignancies. *Leuk Lymphoma*. 2016 Jun 27:1-10.
44. Rossi D, Trifonov V, Fangazio M, Brusca A, Rasi S, Spina V, et al. The coding genome of splenic marginal zone lymphoma: activation of NOTCH2 and other pathways regulating marginal zone development. *J Exp Med*. 2012 Aug 27;209(9):1537-51.

45. Parry M, Rose-Zerilli MJ, Ljungstrom V, Gibson J, Wang J, Walewska R, et al. Genetics and Prognostication in Splenic Marginal Zone Lymphoma: Revelations from Deep Sequencing. *Clin Cancer Res.* 2015 Sep 15;21(18):4174-83.
46. Martinez N, Almaraz C, Vaque JP, Varela I, Derdak S, Beltran S, et al. Whole-exome sequencing in splenic marginal zone lymphoma reveals mutations in genes involved in marginal zone differentiation. *Leukemia.* 2014 Jun;28(6):1334-40.
47. Schmidt J, Gong S, Marafioti T, Mankel B, Gonzalez-Farre B, Balague O, et al. Genome-wide analysis of pediatric-type follicular lymphoma reveals low genetic complexity and recurrent alterations of TNFRSF14 gene. *Blood.* 2016 Aug 25;128(8):1101-11.
48. Louissaint A, Jr., Schafernak KT, Geyer JT, Kovach AE, Ghandi M, Gratzinger D, et al. Pediatric-type nodal follicular lymphoma: a biologically distinct lymphoma with frequent MAPK pathway mutations. *Blood.* 2016 Aug 25;128(8):1093-100.
49. 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.
50. Bea S, Valdes-Mas R, Navarro A, Salaverria I, Martin-Garcia D, Jares P, et al. Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Nov 05;110(45):18250-5.
51. Zhang J, Jima D, Moffitt AB, Liu Q, Czader M, Hsi ED, et al. The genomic landscape of mantle cell lymphoma is related to the epigenetically determined chromatin state of normal B cells. *Blood.* 2014 May 08;123(19):2988-96.
52. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, Jhavar S, Xiao W, Lim KH, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature.* 2011 Feb 3;470(7332):115-9.
53. 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.
54. 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.
55. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016 May 19;127(20):2375-90.
56. Rajala HL, Eldfors S, Kuusanmaki H, van Adrichem AJ, Olson T, Lagstrom S, et al. Discovery of somatic STAT5b mutations in large granular lymphocytic leukemia. *Blood.* 2013 May 30;121(22):4541-50.
57. Nicolae A, Xi L, Pittaluga S, Abdullaev Z, Pack SD, Chen J, et al. Frequent STAT5B mutations in gammadelta hepatosplenic T-cell lymphomas. *Leukemia.* 2014 Nov;28(11):2244-8.
58. Koskela HL, Eldfors S, Ellonen P, van Adrichem AJ, Kuusanmaki H, Andersson EI, et al. Somatic STAT3 mutations in large granular lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2012 May 17;366(20):1905-13.
59. Kucuk C, Jiang B, Hu X, Zhang W, Chan JK, Xiao W, et al. Activating mutations of STAT5B and STAT3 in lymphomas derived from gammadelta-T or NK cells. *Nat Commun.* 2015 Jan 14;6:6025.

60. Choi J, Goh G, Walradt T, Hong BS, Bunick CG, Chen K, et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma. *Nat Genet.* 2015 Sep;47(9):1011-9.
61. Vaque JP, Gomez-Lopez G, Monsalvez V, Varela I, Martinez N, Perez C, et al. PLCG1 mutations in cutaneous T-cell lymphomas. *Blood.* 2014 Mar 27;123(13):2034-43.
62. Vallois D, Dobay MP, Morin RD, Lemonnier F, Missiaglia E, Juilland M, et al. Activating mutations in genes related to TCR signaling in angioimmunoblastic and other follicular helper T-cell-derived lymphomas. *Blood.* 2016 Sep 15;128(11):1490-502.
63. Parrilla Castellar ER, Jaffe ES, Said JW, Swerdlow SH, Ketterling RP, Knudson RA, et al. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood.* 2014 Aug 28;124(9):1473-80.

## 1g. INFORME DIAGNÓSTICO

Autor para la correspondencia: *Santiago Montes Moreno. [smontes@humv.es](mailto: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 *checklist*(1). 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 hematopoyético(2, 3).

**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 linfóide, mutaciones somáticas) 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, 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;134(6):e40-7.
2. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Press I, editor 2008.
3. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016;127(20):2375-90.

## CAPÍTULO 2. LINFOMAS B NO HODGKIN.

### 2a. LINFOMAS B INDOLENTES.

#### LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA B/ LINFOMA B LINFOCÍTICO DE CELULA PEQUEÑA.

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

#### 1. DEFINICIÓN, EPIDEMIOLOGÍA Y RASGOS CLÍNICOS

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

La enfermedad tiene dos formas de manifestación clínica, como:

- \* **Leucemia linfocítica (linfática) crónica (LLC)**, que se define por la presencia de linfocitosis en sangre periférica (SP) de  $\geq 5 \times 10^9/L$  linfocitos B monoclonales con 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 el diagnóstico debe ser **linfocitosis B monoclonal (LBM) con fenotipo de LLC, de LLC atípica o de LLC CD5negativa**. Esta LBM precede a todos los casos de LLC/LL y por ello exige un estrecho seguimiento clínico. Debe ser claramente distinguida de las linfocitosis monoclonales con cifras  $< 0.5 \times 10^9/L$ , sin capacidad de progresión y que no requieren un seguimiento clínico especial.

En occidente es la leucemia más común de los adultos (7ª década de la vida); ligeramente más frecuente en hombres. Hay una tendencia creciente al diagnóstico en individuos más jóvenes. La LLC/LL tiene la más alta tasa de predisposición genética de todas las neoplasias hematológicas. 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.

#### a. 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, secuestro esplénico, anemia hemolítica autoinmune o infecciones.
- Es frecuente la infiltración temprana de los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado, y con ella la aparición de hepato-esplenomegalia y adenopatías.
- Es menos frecuente la afectación de otros territorios extramedulares. De éstos, los que se afectan con mayor frecuencia son el SNC, el tubo digestivo y la piel.
- En un reducido porcentaje de casos hay un pequeño pico monoclonal de inmunoglobulinas.
- Los casos con presentación aleucémica (LL) de la enfermedad son poco frecuentes.

#### b. Curso clínico, respuesta al tratamiento y transformación

- La mayoría de los 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 B difuso de células grandes (el denominado síndrome de Richter), o más raramente un linfoma de Hodgkin (<1%).

### c. Estadaje de la enfermedad

Se emplean dos sistemas: el de Binet o el de Rai modificado, que toman en consideración el número de territorios afectados (considerando 5 posibles áreas cervical, axilar, inguino-femoral, bazo e hígado), los valores de hemoglobina (Hb) y el número de plaquetas.

- Binet: Se definen tres estadios:
  - Estadio A: Hb  $\geq$ 10 g/dL; plaquetas  $\geq$ 100x10<sup>9</sup>/L y no más de dos territorios afectados.
  - Estadio B: Hb  $\geq$ 10 g/dL; plaquetas  $\geq$ 100x10<sup>9</sup>/L y tres o más territorios afectados.
  - Estadio C: Hb <10 g/dL y/o plaquetas <100x10<sup>9</sup>/L, independientemente del número de territorios afectados.
- Rai modificado: se definen 3 estadios:
  - Riesgo bajo: Linfocitosis en 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 <100x10<sup>9</sup>/L)(antes, Rai IV).

Ambos sistemas tienen limitaciones, siendo la más importante su incapacidad para predecir qué pacientes en estadios iniciales tienen mayor riesgo de progresar. Actualmente, resulta de gran valor la diferenciación entre LLC con mutaciones somáticas o sin ellas en los genes que codifican la región variable de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (*IGHV*) (véase más adelante).

## 2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

En la mayoría de los casos, el diagnóstico de LLC se realiza en sangre periférica en base a la cifra de leucocitos, la fórmula leucocitaria, la morfología observada en el frotis y el inmunofenotipo apreciado en la citometría de flujo.

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 las siguientes situaciones clínicas:

- Antes de iniciar un tratamiento, para posteriormente ayudar en la evaluación de la respuesta al mismo.
- Ante citopenias de naturaleza no aclarada, y no justificadas por infiltración, hemólisis o causa carencial.

La biopsia ganglionar tampoco es habitualmente necesaria, salvo en:

- Los casos que se presenten con afectación ganglionar sin compromiso de SP, o cuando se plantea el diagnóstico diferencial con un linfoma del manto.
- En aquellos casos en los que se sospeche una transformación a un linfoma agresivo (debe sospecharse si aparecen: deterioro del estado clínico, síntomas B, aumento de la LDH, rápido crecimiento de los ganglios linfáticos, aparición de lesiones extraganglionares, etc.).

## 3. RASGOS HISTOPATOLÓGICOS Y HEMATOLÓGICOS

### a. 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. La presencia de centros de proliferación grandes y/o confluentes parece estar relacionada con un peor pronóstico.
- El índice de mitosis es muy bajo.

#### b. 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.

#### c. En la médula ósea

- Se describen 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.
- Antes, a los patrones histológicos de infiltración se les daba valor pronóstico y predictivo de progresión, pero esto no se ha confirmado con los esquemas terapéuticos actuales.
- La infiltración paratrabecular no es propia de la LLC.
- Los centros de proliferación son menos prominentes que en el ganglio.
- Linfocitos pequeños, con el núcleo redondo, la cromatina compacta y el citoplasma escaso.

#### d. En la sangre periférica

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

### 4. CITOMETRÍA DE FLUJO Y PANEL DE INMUNOHISTOQUÍMICA

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

**Panel de primera línea en IHQ:** CD20, CD3, CD5, CD23, BCL2 y ciclina D1.

**Panel de segunda línea en IHQ:** LEF1, IgD y CD43.

- 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 se ha fijado en B5 hay falsos negativos con CD5.
- La expresión de ZAP70 ( $\geq 20\%$  de las células) y CD38 ( $\geq 30\%$  de las células) ocurre habitualmente en los casos con *IGHV* no mutado y se asocia a un pronóstico adverso.

### 5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

#### a. Diagnóstico diferencial

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

**b. Causas de errores diagnósticos**

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

**6. CITOGENÉTICA Y MUTACIONES SOMÁTICAS**

La LLC/LL es una enfermedad también muy heterogénea y compleja desde el punto de vista genético.

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

- Según el grado de homología con respecto a la secuencia de nucleótidos del gen VH entre las células leucémicas y la línea germinal, se distingue entre LLC con *IGHV* mutado (<98 % de homología) y LLC con *IGHV* no mutado (≥98% de homología).
- Los casos con *IGHV* no mutado tienen peor pronóstico: a) mayor riesgo de recurrencia tras el trasplante de médula ósea; b) la transformación (síndrome de Richter) ocurre casi exclusivamente en este subgrupo; c) mayor tendencia a adquirir alteraciones citogenéticas desfavorables y d) 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.

**b. Alteraciones citogenéticas**

- Las alteraciones citogenéticas (cromosómicas) en la LLC constituyen uno de los principales factores pronósticos independiente, 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). De manera alternativa se pueden usar *arrays* de hibridación genómica comparada.
- En los casos de LLC se han identificado una amplia variedad de alteraciones citogenéticas. Las más frecuentes son:
  - *del(13q14)*, en general con pronóstico favorable
  - *trisomía 12* y *del(6q21)*, con un pronóstico intermedio
  - *del(17p13)* y *del(11q22-23)*, se relacionan con un curso clínico agresivo y mal pronóstico
- Las alteraciones citogenéticas son relativamente estables durante el curso de la enfermedad, pero en algunos casos aparecen alteraciones adicionales (p. ej. *del(17p13)* durante su evolución. En el 20% de los casos de LLC tienen de partida cariotipos complejos, en general asociados a un mal pronóstico.
- Aunque algunos grupos postulen que antes de iniciar el tratamiento es suficiente con el estudio de la *del(17p)* y la *del(11q)*, en general se recomienda el estudio de la *trisomía 12*, *del(17p)*, *del(11q)* y *del(13q)* para una adecuada orientación pronóstica y terapéutica.

**c. Otras mutaciones génicas**

- El empleo de las nuevas técnicas de secuenciación ha contribuido de manera extraordinaria al conocimiento de las alteraciones genómicas de la LLC.
- Los genes que con mayor frecuencia están mutados en la LLC son:
  - *TP53*, con baja incidencia en estadios iniciales, las mutaciones en este gen son más prevalente en la LLC en progresión y la enfermedad refractaria al tratamiento. Se asocia *del(17p13)*, con una

concordancia del 80%. En el 5% de los casos con mutación en *TP53* no hay *del(17p13)*, y por ello se consideran factores pronósticos adversos independientes.

- *ATM*, las mutaciones en este gen son más frecuente en casos con *del(11q)* pero se considera también un factor pronóstico adverso independiente.
- *NOTCH1*, es uno de los que con mayor frecuencia aparece mutado en la LLC, particularmente en casos de enfermedad avanzada o de síndrome de Richter. Se asocia a la *trisomía 12*.
- *SF3B1*, las mutaciones en este gen también son más frecuente en casos con *del(11q)* y enfermedad avanzada.
- *MYD88*, presente en casos de IGHV mutado ( $\approx$  3% del total).

## 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/LL se consideran los siguientes:
  - Estadio clínico de la enfermedad.
  - Marcadores séricos (LDH,  $\beta$ 2-microglobulina, timidina quinasa, entre otros).
  - Tiempo de duplicación de las cifras de linfocitos en la sangre periférica (mayor o menor de 12 meses).
  - Centros de proliferación grandes y/o confluentes.
  - 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 inmunohistoquímica, generalmente de sangre periférica en los casos de LLC y 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 identificando el patrón de infiltración de la médula ósea o valorando la respuesta al tratamiento. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. El diagnóstico de LL, 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 C. Evidencia nivel IV.
6. 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 de TP53. Grado C. Evidencia nivel IV.

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

## REFERENCIAS

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016;127:2375-2390.
2. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol* 2015;90:447-460.
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. Strati P, Shanafelt TD. Monoclonal B-cell lymphocytosis and early-stage chronic lymphocytic leukemia: diagnosis, natural history, and risk stratification. *Blood* 2015;126:454-462
5. Parikh SA, Shanafelt TD. Prognostic factors and risk stratification in chronic lymphocytic leukemia *Semin Oncol* 2016;43:233-240.
6. Rossi D, Gaidano G. The clinical implications of gene mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Cancer* 2016;114:849-854.
7. Martín-Subero JI, López-Otín C, Campo E. Genetic and epigenetic basis of chronic lymphocytic leukemia. *Curr Opin Hematol* 2013;20:362-368.
8. 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; 27:1100-1106.
9. Villamor N, Lopez-Guillermo A, Lopez-Otin C, Campo E. Next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Hematol* 2013;50:286-295.
10. Amin NA, Malek SN. Gene mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol* 2016;43: 215-221.

## LEUCEMIA CÉLULAS B-PROLINFOCITICA

Autor para la correspondencia: *Manuela Mollejo* ([mmollejov@sescam.jccm.es](mailto: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 descartar 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 CLL.

### 2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se establecerá en la mayoría de las ocasiones en sangre periférica y/o médula ósea. Las descripciones de la PLL 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.

**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:** CD20, CD22, FMC7, CD5, CD23

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

**Paneles de segunda línea:** IgD, IgM

### 5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

El estudio citogenético no es imprescindible pero si 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 (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 de diferentes leucemias de linfocitos B. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. Debe excluirse linfoma manto leucémico mediante la ausencia de expresión de ciclina D1 y/o ausencia de t(11;14) mediante FISH. Grado C. Evidencia nivel IV Grado C.
4. El estudio de cariotipo no es necesario en el panel diagnóstico habitual de la LPL. Grado C. Evidencia nivel IV.

### REFERENCIAS

1. 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.
2. 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.

- 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.

## LINFOMA FOLICULAR (LF)

Autor para la correspondencia: *Empar Mayordomo-Aranda* ([empar13@hotmail.com](mailto:empar13@hotmail.com))

### 1. DEFINICIÓN

Neoplasia linfoide de células B maduras centrofoliculares (centrocitos y centroblastos) de patrón nodular predominante.

### 2. FRECUENCIA Y FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS

- Es un linfoma 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. Raro antes de los 20 años.

### 3. PRESENTACIÓN CLÍNICA Y EVOLUCIÓN

#### 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 al diagnóstico (60% de los casos) y del bazo.
- Menos frecuentemente: piel, anillo de Waldeyer, tubo digestivo, mama y testículos.
- Se ha descrito presentación leucémica (linfocitosis absoluta) del LF en el momento del diagnóstico, aunque varía según las series entre el 4-23% de los casos (1).

#### 3.b. Curso clínico y progresión

- Curso clínico prolongado, con remisiones y recurrencias.
- El 25-35% de los LF progresan a un linfoma de alto grado. Lo más frecuente es la transformación histológica a LBDCG, pero también puede hacerlo en formas más agresivas como un linfoma B de alto grado DH/TH y con menos frecuencia a un linfoma de tipo linfoblástico. En estos casos es recomendable identificar la presencia de traslocaciones de *BCL2*, *BCL6* y *MYC*.

### 4. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

- La **biopsia por escisión** del ganglio linfático o del tejido extraganglionar afectado es la muestra idónea para el diagnóstico de linfoma folicular. Es la única muestra que permite evaluar el tejido por completo por lo que es posible establecer el patrón y el grado con seguridad.
- La biopsia con aguja gruesa (BAG) puede estar justificada en casos de adenopatías no accesibles (por ejemplo las retroperitoneales). Es posible alcanzar el diagnóstico de LF con la ayuda de la inmunohistoquímica y la biología molecular; no obstante debe advertirse mediante una nota al diagnóstico que el diagnóstico puede estar sesgado por el tipo de material remitido (particularmente el grado citológico del tumor o la presencia de áreas de patrón difuso).
- La PAAF no es un procedimiento diagnóstico recomendable para el diagnóstico inicial de LF.
- La biopsia de M.O tampoco es un método diagnóstico adecuado porque aunque el patrón de infiltración es muy característico (patrón paratrabecular), no es exclusivo. No obstante es el método de elección para la estadificación de todos los casos de linfoma folicular. El aspirado no es suficiente para el diagnóstico dado que no nos permite evaluar el patrón de infiltración.



## 5. MORFOLOGÍA Y GRADOS HISTOLÓGICOS

### 5.a. Morfología

- Borramiento de la arquitectura ganglionar normal.
- Patrón nodular, con nódulos compactos, sin centro claro, con mantos ausentes o atenuados, en estrecho contacto.
- Dos tipos celulares en los folículos: centroblastos (CB) y centrocitos (CC), sin presencia de macrófagos con cuerpos tingibles. La cantidad de CB establecerá el grado del LF.
- De forma focal existen CC neoplásicos (generalmente más pequeños que los foliculares) entre los folículos. Este no es criterio de patrón difuso. Si la proporción es superior a 25% debe indicarse en el informe que existe un patrón difuso (de bajo grado, compuesto de forma predominante por CC).
- La presencia de áreas difusas con células CB (de gran tamaño) debe reflejarse en el informe y se considera como LBDCG. De esta forma incluiremos por separado el % de cada uno de los componentes (LBDCG en % y LF en %). Estos casos son manejados clínicamente como un LBDCG.
- En un pequeño porcentaje de LF se advierte un patrón de crecimiento invertido, que remeda al linfoma marginal nodal, no obstante un adecuado estudio inmunohistoquímico nos permitirá diferenciarlo. Así mismo se ha descrito diferenciación marginal, monocitoide e incluso linfoplasmocítica, fundamentalmente en la periferia de los folículos, formando parte de la población neoplásica. Dicho hallazgo no varía ni el diagnóstico, ni el grado.

### 5.b. Grados histológicos

- Se establece según el número de CB por campo de gran aumento, por lo que debemos contar al menos 10 campos en diferentes folículos, considerando aquellos que morfológicamente veamos de grado mayor.
- Grado 1: 0-5; Grado 2: 6-15; Grado 3A: >15 (con CC presentes); Grado 3B: >15 (no hay CC).
- Es imprescindible incluir el grado en el informe anatomopatológico.

### 5.c. Afectación de la médula ósea

- Existe frecuentemente afectación medular al diagnóstico y típicamente suele ser paratrabecular, aunque puede mostrar patrones de afectación intersticial, nodular y difuso. No es necesario el estudio inmunohistoquímico en todos los casos aunque sí recomendable.

El estudio IHQ nos permite detectar infiltrados sutiles desde el punto de vista morfológico y descartar la presencia de nódulos mixtos intramedulares reactivos. Para ello utilizaremos CD20 y CD3 y en caso de duda CD10/BCL6 y BCL2. En casos con terapia previa con antiCD20 es útil el uso de otros marcadores B como PAX5 y CD79.

## 6. INMUNOFENOTIPO

- El linfoma folicular típicamente expresa marcadores B (CD20, CD79a, CD19, OCT2 y PAX5), marcadores de centro folículo (BCL6, CD10) y BCL2. Puede resultar de ayuda el CD21 y/o CD23, que marcan las células dendríticas foliculares, para distinguir entre folículos confluentes y áreas difusas. En ocasiones se observa expresión de CD23 por las células neoplásicas.
- No es necesario utilizar todos los marcadores de estirpe B, pero sí al menos 2 en aquellos casos en que el paciente haya sido tratado con rituximab porque el CD20 puede ser negativo completamente.
- El linfoma folicular típicamente *no* expresa CD3 ni ciclina D1. En cambio se han descrito LF con expresión de CD5; así como LF CD10-MUM1+.
- BCL2 se sobreexpresa en la mayoría de los casos de LF. Un porcentaje significativo de LF de grado 3 puede ser negativo para BCL2 y carecer de t(14;18). Incluso, hasta el 10% de los casos con t(14;18) pueden ser negativos para BCL2 utilizando el clon usual (clon 124). En este último caso el uso de clones alternativos (E17, SP66) puede ser de utilidad para desenmascarar la pseudonegatividad.



- El índice de proliferación (Ki67) no es necesario para el diagnóstico, ni para establecer el grado, aunque puede ser de utilidad para el diagnóstico diferencial con hiperplasia linfoide reactiva y LBDCG. Generalmente el los LF de bajo grado suele ser <20% (LF de grado 1-2) y >20% en LF de alto grado (grado 3a y 3b).

## 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.
- Linfoma de células grandes B con reordenamiento de IRF4.

### 7.b. Causas de errores diagnósticos

- BCL2 puede ser negativo o débilmente positivo en LF, 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, apariencia blastoide, 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.

## 8. CITOGENÉTICA Y DATOS MOLECULARES

- La translocación t(14;18) que reordena *BCL2* con el gen de las inmunoglobulinas (*IgH*) está presente en el 90% de los LF de grado 1-2, y con menos frecuencia en los de grado 3.
- 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 disrupción mecánica de muestra de tejido). Esta técnica es suficiente para el diagnóstico de rutina de este linfoma.
- El estudio de PCR para detectar reordenamientos de *BCL2* no es una alternativa en el ámbito diagnóstico por su escasa sensibilidad.
- 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 del reordenamiento del gen *BCL2* por FISH en los casos con inmunofenotipo aberrante y/o patrón histológico atípico.
- 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). El estudio de *BCL6* también puede ser de utilidad en los LF de tipo pediátrico. Asimismo existe un subgrupo de Linfomas B de célula grande de fenotipo GCB con reordenamientos de IRF4/MUM1 (2).
- Un subgrupo de LF sin la t(14;18)(q32;q21) y caracterizado por un patrón predominantemente difuso se asocia a deleciones en 1p36 (3) y localización inguinal de las adenopatías.

- La transformación a LBDCG conlleva la adquisición de alteraciones genéticas adicionales, particularmente la translocación del gen *MYC* y otras relacionadas con la disregulación del ciclo celular y la respuesta al daño del DNA.

## 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 pronosticos.

- 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 (4,5)
- El grado histológico es un buen factor pronostico del curso de la enfermedad y del riesgo de transformación a LBDCG.
- La presencia de áreas difusas en LF de grado 1-2 no influye en el pronóstico. Es esencial distinguir entre un patrón difuso de bajo grado y la presencia concomitante de LBDCG y LF.
- 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 (2016) 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.

## 10. VARIANTES DEL LINFOMA FOLICULAR

### 10. 1.- NEOPLASIA FOLICULAR IN SITU

El término linfoma folicular in situ en la nueva edición de la OMS ha sido sustituido por el de neoplasia folicular in situ; en cambio sus criterios diagnósticos no han variado.

El diagnóstico se establece cuando observamos una arquitectura ganglionar o folicular extraganglionar conservada, frecuentemente con un patrón predominante de hiperplasia linfoide reactiva, pero con expresión intensa, en un número variable de folículos de CD10 y BCL2 (8, 9). Se excluyen los casos que presentan en la misma biopsia áreas que cumplen criterios de LF convencional con infiltración parcial del ganglio linfático. Es particularmente informativa, en este diagnóstico diferencial la presencia de infiltración interfolicular.

El riesgo de transformación a LF establecido de lesiones aisladas e incidentales de neoplasia folicular in situ es muy bajo. No obstante, en un porcentaje significativo de los casos los pacientes tienen LF establecido en el momento de este diagnóstico (confirmado en otra biopsia) o lo desarrollan a corto plazo. Otro subgrupo de casos se identifica en el momento del diagnóstico de otras neoplasias linfoides, no LF.

En el momento del diagnóstico de neoplasia folicular in situ es recomendable insistir en la necesidad de un adecuado despistaje clínico de linfoma establecido (estudios de imagen y biopsia de médula ósea si existe sospecha clínica de linfoma establecido) (6-11).

### 10. 2.- LINFOMA FOLICULAR DE TIPO PEDIÁTRICO

Es una variante de LF que suele aparecer en niños pero que ha sido descrita también en adultos. Es principalmente de localización ganglionar, aunque puede presentarse en el anillo de Waldeyer.

Morfológicamente recuerda un LF, con nódulos y células grandes, de aspecto blastoide, o difícilmente clasificable, con variable expresión de BCL2, sin reordenamiento del gen *BCL2*. Tampoco se han detectado reordenamiento de *BCL6*, ni *C-MYC*. Resulta por tanto necesario determinar clonalidad. Recientemente se han descrito mutaciones somáticas (*MAP2K1* y *TNFRSF14*) distintas a las usuales en LF convencional. Clínicamente la enfermedad tiene un excelente pronóstico, por lo que el manejo clínico debe ser conservador (12).

### 10.3.- LF DEL TRACTO GASTROINTESTINAL.

#### LF PRIMARIO DUODENAL.

La región de aparición más frecuente es la segunda porción del duodeno y la presentación clínica suele ser en forma de múltiples pólipos sin sintomatología clínica específica. En ocasiones incluso inexistente. El estadiaje clínico es bajo y no tienen tendencia a progresar. El pronóstico es excelente incluso sin tratamiento específico, recomendándose una actitud conservadora. (13-14)

### 10.4.- LF PRIMARIO TESTICULAR

Localización extraganglionar frecuente, no sólo en niños, sino también en adultos. Estadiaje clínico bajo (1E generalmente), afectación unilateral y pronóstico excelente. Hay que recordar que suelen no expresar BCL2, ni presentar la t(14;18). (15).

### 10.5.- LINFOMA FOLICULAR PREDOMINANTEMENTE DIFUSO CON DELECCION 1P36.

Se trata de un linfoma poco frecuente, de localización típicamente inguinal, con un patrón de crecimiento difuso, de bajo grado. El estudio inmunohistoquímico muestra expresión de marcadores de centrofolículo, expresión variable de BCL2 y, usualmente expresión de CD23. No se observan reordenamientos de BCL2, habiéndose descrito otras alteraciones moleculares como la del 1p36 (3).

### 10.6.- LINFOMA B CENTROFOLICULAR CUTANEO: se discute en el capítulo de linfomas cutáneos.

## RECOMENDACIONES

1. El LF se presenta típicamente en la edad adulta con adenopatías generalizadas. No obstante no debemos olvidar que puede presentarse como enfermedad extraganglionar (LF duodenal), localizada (LF variante difusa), en forma leucémica y en edad temprana (LF de tipo pediátrico). Grado C. Evidencia nivel IV.
2. El grado histológico del LF debe aparecer en el informe anatomopatológico. 1. 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 folicular del grado que corresponda, expresando los porcentajes de ambos. 1. Grado C. Evidencia nivel IV.
4. El panel inmunohistoquímico de primera línea para el diagnóstico de LF debe incluir: CD20, CD3, BCL2, BCL6, CD10, CD5 y Ki67. 1. Grado C. Evidencia nivel IV.
5. El panel inmunohistoquímico de segunda línea para el diagnóstico de LF puede incluir: MUM1, otros marcadores B (PAX5, OCT2), CD21, CD23, p53 y en función de CD5, ciclina D1. 1. 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 (anti-CD20). 1. Grado C. Evidencia nivel IV.
7. El LF in situ cambia el nombre en la última edición de la OMS, por neoplasia folicular in situ. Es conveniente incluir una nota en el informe acerca del significado de la lesión y la conveniencia de realizar un estudio clínico para descartar LF establecido u otro tipo de linfoma (técnicas de imagen, TAC y biopsia de MO). 1. Grado C. Evidencia nivel IV.
8. El estudio citogenético no es imprescindible para el diagnóstico de LF aunque si recomendable, especialmente en los casos de morfología o fenotipo atípicos. 1. Grado C. Evidencia nivel IV.
9. Se recomienda el estudio por FISH del reordenamiento de BCL2 con sondas de tipo break appart para cortes de parafina y dual fusión para extensiones. 1. Grado C. Evidencia nivel IV.

**REFERENCIAS**

1. 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.
2. 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.
3. Katzenberger, T., J. Kalla, E. Leich, H. Stocklein, E. Hartmann, S. Barnickel, S. Wessendorf, M. M. Ott, H. K. Muller-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.
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. Freedman, A. (2014). "Follicular lymphoma: 2014 update on diagnosis and management." *Am J Hematol* 89(4): 429-436.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Bermudez G, González de Villambrosía S, Martínez-López A, Batlle A, Revert-Arce JB, Cereceda Company L, Ortega Bezanilla C, Piris MA, Montes-Moreno S (2016). Incidental and Isolated Follicular Lymphoma In Situ and Mantle Cell Lymphoma In Situ Lack Clinical Significance. *Am J Surg Pathol*. 40(7):943-9

12. 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.
13. Schmatz AI, Streubel B, Kretschmer-Chott E, et al. Primary follicular lymphoma of the duodenum is a distinct mucosal/submucosal variant of follicular lymphoma: a retrospective study of 63 cases. *J Clin Oncol*. 2011;29(11): 1445-1451.
14. Takata K, Sato Y, Nakamura N, et al. Duodenal follicular lymphoma lacks AID but expresses BACH2 and has memory B-cell characteristics [published correction appears in *Mod Pathol*.2013;26(8):1152]. *Mod Pathol*. 2013;26(1): 22-31.

## LINFOMAS DE LA ZONA MARGINAL

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

### LINFOMA ESPLENICO DE LA ZONA MARGINAL

#### 1. DEFINICIÓN 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 Africa subsahariana se ha documentado un cuadro idéntico al LZME con linfocitos vellosos asociado con malaria. El LZME aparece en personas de edad avanzada (media 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 IgM. 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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, como rituximab con o sin monoterapia asociada.

### 3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

- 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 Mib1 (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. La expresión de LEF1 es otro marcador útil para el diagnóstico de LLC-B frente a LEZM.
  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, con un fenotipo tipo marginal, 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, CD123, CD103, kappa, lambda.

**Panel de primera línea IHQ:** CD20, CD3, bcl2, bcl6, ciclina D1, CD23, Ki67.

El patrón de tinción con bcl2 y MIB1 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, LEF1

## 5. CITOGENÉTICA/MOLECULAR

El análisis del gen de las inmunoglobulinas (Ig) ha mostrado el uso selectivo de la familia IGHV1-2 aproximadamente en un tercio de los LEZM.

Los estudios citogenéticos revelan anomalías en el 70-80% de los casos, con cariotipos complejos en un 50%. Entre las anomalías más frecuentes se encuentran las trisomías totales o parciales de los cromosomas 3/3q(25%) y 12q(13%) 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. Estudios de secuenciación masiva han mostrado que los genes más frecuentemente mutados son NOTCH2 en 10-25% y KLF2 en 12-44%.

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. Mutaciones del gen MYD88 son poco frecuentes, hasta 19%, 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, linfoplasmacítico, 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. Arcaini L, Rossi D, Paulli M. (2016) "Splenic marginal zone lymphoma: from genetics to management" (2016) Blood 127(17):2072-81.
2. Parry M, Rose-Zerilli MJ, Ljungström V, Gibson J, Wang J, Walewska R, Parker H, Parker A, Davis Z, Gardiner A, McIver-Brown N, Kalpadakis C, Xochelli A, Anagnostopoulos A, Fazi C, Gonzalez de Castro D, Dearden C, Pratt G, Rosenquist R, Ashton-Key M, Forconi F, Collins A, Ghia P, Matutes E, Pangalis G, Stamatopoulos K, Oscier D, Strefford JC.(2015). "Genetics and Prognostication in Splenic Marginal Zone Lymphoma: Revelations from Deep Sequencing". Clin Cancer Res. 21(18):4174-83.



3. Mollejo M, Menárguez J, Guisado-Vasco P, Bento L, Algara P, Montes-Moreno S, Rodríguez-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
4. 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.
5. Wotherspoon AC. Extranodal and splenic small B-cell lymphoma. *Mod Pathol*. 2013 Jan;26 Suppl 1:S29-41. Review.
6. Piris MA, Arribas A, Mollejo M. Marginal zone lymphoma. *Semin Diagn Pathol*. 2011 May;28(2):135-45. Review.
7. 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.
8. 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
9. 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.
10. 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
11. 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.
12. 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 lymphoma simulating splenic marginal zone lymphoma. *Histopathology*. 1998 Sep;33(3):230-9.
13. 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.
14. 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. DEFINICIÓN 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

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. CITOGENÉTICA/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
- la 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/precusores, 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. Evidencia nivel III.

## REFERENCIAS

1. Zucca E, Bertoni F. (2016) "The spectrum of MALT lymphoma at different sites: biological and therapeutic relevance". *Blood* 127(17):2082-92.
2. Thieblemont, C., F. Bertoni, C. Copie-Bergman, A. J. Ferreri and M. Ponzoni (2014). "Chronic inflammation and extra-nodal marginal-zone lymphomas of MALT-type." *Semin Cancer Biol* 24: 33-42.
3. Suarez, F., O. Lortholary, O. Hermine and M. Lécuit (2006). "Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation." *Blood* 107(8): 3034-304.
4. Ferreri, A. J., S. Govi and M. Ponzoni (2013). "Marginal zone lymphomas and infectious agents." *Semin Cancer Biol* 23(6): 431-440.

## 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 DIAGNÓSTICO

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 HISTOPATOLÓGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN.

**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. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

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. CITOGENÉTICA/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.

Estudios de secuenciación masiva han identificado mutaciones del gen PTPRD (14,3%), como un nuevo marcador de este tipo de linfoma, y la presencia de mutaciones somáticas de genes descritos en LEZM como NOTCH2 (20%) y de KLF2 (14,3%).

## RECOMENDACIONES.

1. La biopsia escisional 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. Spina V, Khiabani H, Messina M, Monti S, Cascione L, Brusca A, Spaccarotella E, Holmes AB, Arcaini L, Lucioni M, Tabbò F, Zairis S, Diop F, Cerri M, Chiaretti S, Marasca R, Ponzoni M, Deaglio S, Ramponi A, Tiacci E, Pasqualucci L, Paulli M, Falini B, Inghirami G, Bertoni F, Foà R, Rabadan R, Gaidano G, Rossi D. (2016) "The genetics of nodal marginal zone lymphoma". *Blood* 128(10):1362-73
2. van den Brand M, van der Velden WJ, Diets IJ, Ector GI, de Haan AF, Stevens WB, Hebeda KM, Groenen PJ, van Krieken HJ. (2016) "Clinical features of patients with nodal marginal zone lymphoma compared to follicular lymphoma: similar presentation, but differences in prognostic factors and rate of transformation". *Leuk Lymphoma* 57(7):1649-56
3. 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.
4. Angelopoulou MK, Kalpadakis C, Pangalis GA, Kyrtsonis MC, Vassilakopoulos TP. Nodal marginal zone lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2013 Nov 12.
5. 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
6. 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
7. Kanellis G, Roncador G, Arribas A, Mollejo M, Montes-Moreno S, Maestre L, Campos-Martin Y, Ríos Gonzalez JL, Martínez-Torrecedrera JL, Sánchez-Verde L, Pajares R, Cigudosa JC, Martín MC, Piris MA Identification of MNDA as a new marker for nodal marginal zone lymphoma. *Leukemia*. 2009 23(10):1847-57. PMID: 19474799

8. 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.
9. 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](mailto: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 plasmática. Afecta médula ósea, bazo y menos frecuentemente ganglio linfático. Es frecuente la presencia de paraproteína, generalmente IgM. Macroglobulinemia de Waldenstrom (MW) se define como un LPL con infiltración de médula ósea y producción de componente monoclonal IgM, independientemente de su cantidad y de que haya o no sintomatología. 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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:** Muestra un infiltrado paratrabecular, intersticial, difuso 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. Para establecer el diagnóstico de MW es obligado el estudio de la médula ósea (aspirado y biopsia).

**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 epitelioideos,

**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. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico de LPL es un diagnóstico de exclusión, ya que otros linfomas B de células pequeñas pueden mostrar diferenciación plasmática, 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 linfoplasmáticas 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 linfoplasmáticas 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, sIgM, CD10

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

**Paneles de segunda línea:** CD56

#### 5. CITOGENÉTICA 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-IgM (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 linfomas 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. Castillo JJ, Garcia-Sanz R, Hatjiharissi E, Kyle RA, Leleu X, McMaster M, Merlini G, Minnema MC, Morra E, Owen RG, Poulain S, Stone MJ, Tam C, Varettoni M, Dimopoulos MA, Treon SP, Kastiris E. (2016) "Recommendations for the diagnosis and initial evaluation of patients with Waldenström Macroglobulinaemia: A Task Force From the 8th International Workshop on Waldenström Macroglobulinaemia". Br J Haematol. 175(1):77-86.
2. Bassarova A, Trøen G, Spetalen S, Micci F, Tierens A, Delabie J. (2015). "Lymphoplasmacytic lymphoma and marginal zone lymphoma in the bone marrow: paratrabecular involvement as an important distinguishing feature". Am J Clin Pathol. 143(6):797-806.

3. Treon SP, Cao Y, Xu L, Yang G, Liu X, Hunter ZR.(2014)“Somatic mutations in MYD88 and CXCR4 are determinants of clinical presentation and overall survival in Waldenstrom macroglobulinemia”. *Blood*. 123(18):2791-6.
4. Mollejo M, Menárguez J, Guisado-Vasco P, Bento L, Algara P, Montes-Moreno S, Rodríguez-Pinilla MS, Cruz MA, Casado F, Montalbán C, Piris MA. (2014) “Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders encompass a broader clinical and morphological spectrum than previously recognized: a clinicopathological study”. *Modern Pathol*, 27(2):281-93.
5. 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.(2013). MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenström’s macroglobulinemia. *Leukemia*. 27:1722-8.
6. Gachard, N., Parrens M, Soubeyran, B, Petit B, Marfak A, Rizzo D, Devesa M, Delage-Corre M, Coste V, Laforet MP, Mascarel A, Merlio JP, Bouabdalla K, Milpied N, Soubeyral P, Schmitt A, Bordessoule D, Cogne M and Feuillard J (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.
7. Ondrejka S, Lin JJ, Warden DW, Durkin L, Cook JR, and Hsi ED (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.
8. 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.
9. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, Sheehy P, Manning RJ, Patterson CJ, Tripsas C, Arcaini L, Pinkus GS, Rodig SJ, Sohani AR, Harris NL, Laramie JM, Skifter DA, Lincoln SE, Hunter ZR.(2012)“MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström’s macroglobulinemia”. *N Engl J Med*. 367(9):826-33.
10. 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.

## **OTROS PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS (HCL, LINFOMAS B ESPLENICOS INCLASIFICABLES)**

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

## **LEUCEMIA DE CÉLULAS PELUDAS**

### **1. DEFINICIÓN 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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 DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial 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 diagnóstico diferencial.

**Panel de primera línea CMF:** CD20/CD22, CD11c, CD25, CD103, CD123, kappa y lambda.

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

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

## 5. CITOGENÉTICA/MOLECULAR

Se ha descrito la presencia de la mutación V600E en casi el 100% 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. El estudio de la presencia de la mutación de BRAF es recomendable aunque no imprescindible en el momento actual para el diagnóstico de LCP. Grado C. Evidencia nivel IV.
4. La morfología de las células con citoplasmas amplios y claros hace sospechar el diagnóstico de LCP. Grado C. Evidencia nivel IV.
5. 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.
6. La fuerte expresión de TRAP es casi exclusiva de la LCP. Grado C. Evidencia nivel IV.
7. 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. Grever MR, Abdel-Wahab O, Andritsos LA, Banerji V, Barrientos J, Blachly JS, Call TG, Catovsky D, Dearden C, Demeter J, Else M, Forconi F, Gozzetti A, Ho AD, Johnston JB, Jones J, Juliusson G, Kraut E, Kreitman RJ, Larratt L, Lauria F, Lozanski G, Montserrat E, Parikh SA, Park JH, Polliack A, Quest GR, Rai KR, Ravandi F, Robak T, Saven A, Seymour JF, Tadmor T, Tallman MS, Tam C, Tiacci E, Troussard X, Zent CS, Zenz T, Zinzani PL, Falini B. (2016) "Consensus guidelines for the diagnosis and management of patients with classic hairy cell leukemia". *Blood* 2016. Nov 30. pii: blood-2016-01-689422
2. Robak T, Matutes E, Catovsky D, Zinzani PL, Buske C; ESMO Guidelines Committee. "Hairy cell leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up". *Ann Oncol*. 2015 Sep;26 Suppl 5:v100-7.
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
4. 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.
5. 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 CÉLULAS PEQUEÑAS, DIFUSO DE LA PULPA ROJA

### 1. DEFINICIÓN 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

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 anexina 1, 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.

Recientemente se ha descrito que la ciclina D3 es expresada en la mayoría de los LEDPR, siendo un marcador útil para realizar el diagnóstico de esta entidad.

#### 4. PANELES DE IHQ

**Panel primera línea CMF:** CD20/CD22, CD25, CD103, CD123.

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

**Panel de segunda línea:** Anexina 1, IgD, BRAFV600E (clonVE1), ciclina D3.

#### 5. CITOGENÉTICA/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 29% de los casos. A diferencia del LEZM, solo es ocasional la presencia de del7q. Los estudios de secuenciación masiva han mostrado mutaciones somáticas de MAP2K1, p53, NOTCH2 y CCND3 en esta entidad.

### RECOMENDACIONES.

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

### REFERENCIAS

1. Curiel-Olmo S, Mondejar R, Almaraz C, Mollejo M, Cereceda L, Mares R, Derdak S, Campos-Martin Y, Batlle A, Gonzalez de Villambrosia S, Gut M, Blanc J, Traverseglehen A, Verney A, Baseggio L, Camacho FI, Wotherspoon A, Stamatopoulos K, Xochelli A, Papadaki T, Kanellis G, Ponzoni M, Garcia-Cosio M, Vaque JP, Beltran S, Gut I, Piris MA, Martinez N. Splenic diffuse red pulp small-B cell lymphoma displays increased expression of cyclin D3 and recurrent CCND3 mutations. *Blood* 2017.
2. Ponzoni M, Kanellis G, Poulidou 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
3. 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.
4. 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)
5. 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

6. 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 CÉLULAS PELUDAS, VARIANTE

### 1. DEFINICIÓN 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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 DIAGNÓSTICOS

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:** CD20, CD103, CD123, CD25, CD11c

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

**Panel de segunda línea:** IgD, IgG, DBA44

### 5. CITOGENÉTICA/MOLECULAR

No se conocen alteraciones citogenéticas/moleculares específicas de este tumor. Se han descrito mutaciones de TP53 en un 30% de los casos y mutaciones de MAP2K1 en un 50% de LCPv. La mutación BRAFV600E descrita en la LCP no se da en la LCPv.

## 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 distintivo de 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 Anexina1 y BRAFV600E para descartar una LCP clásica.

## REFERENCIAS

1. Waterfall JJ, Arons E, Walker RL, et al. High prevalence of MAP2K1 mutations in variant and IGHV4-34-expressing hairy-cell leukemias. *Nat Genet* 2014; 46:8–10.
2. 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
3. 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
4. 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.

## 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 IDÓNEA 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).

#### 3. TIPO DE ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN

**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 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.

#### 4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

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 de alto grado doble/triple hit y Linfoma B Difuso de Células grandes con reordenamientos aislados de *MYC*.

#### 5. 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), CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, kappa, lambda(3).

**Panel de segunda línea:** HIS para EBV-EBER.

#### 6. 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 traslocaciones 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 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, nivel de evidencia IV).
3. Panel de primera línea CMF: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, kappa, lambda. (Grado C, nivel de evidencia IV).
4. Panel de segunda línea: HIS para EBV-EBER. (Grado C, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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.

#### 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 pa-

trón 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 IDÓNEA 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(6, 7) y en una minoría de casos representa una situación de linfoma B indolente en progresión a Linfoma B de células grandes(8).

## 4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

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 alto grado (Linfoma B de alto grado DH/TH/NOS).
- 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 NOS, 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 HIBRIDACIÓN 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, 9, 10). Se han desarrollado varios algoritmos inmunohistoquímicos que son subrogados imperfectos del perfil de expresión génica con tasas de concor-



dancia variables en torno al 90%(9-11). 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(11). 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(12-14). 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 clínicopatológicos y moleculares específicos(15). 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. Otro marcador que se ha relacionado con pronóstico en LBDCG es CD5. Se ha demostrado en series retrospectivas multicéntricas que la expresión de CD5 se asocia con características clínico-patológicas particulares y peor pronóstico tras R-CHOP en LBDCG(16).

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 NOS (incluyendo aquí casos en pacientes de cualquier edad(17)), 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, CD5.
- Necesario en casos con morfología inmunoblástica/plasmablástica: CD138, CD38, Ki67, MUM1, C-MYC, HHV-8, ALK, EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1).
- Necesario en casos con sospecha de linfoma B EBV positivo: 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(18). De hecho, **la presencia concurrente y simultánea de traslocaciones de MYC y BCL2 y/o BCL6 en un caso de linfoma B difuso indica el diagnóstico de Linfoma B de alto grado DH/TH, en lugar del de LBDCG.** 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 y en casos con fenotipo GCB (12, 13, 19). Se



sugiere, basándose en esta evidencia, testar para FISH de *MYC* y *BCL2* al menos aquellos casos con fenotipo GCB, si no es factible testar mediante FISH cada caso con morfología de LBDCG. Si se encuentra *MYC* reordenado, con o sin reordenamiento de *BCL2* mediante FISH, es de utilidad identificar el posible reordenamiento de *BCL6*(20).

Cerca de un 2% de los casos de LBDCG sobreexpresan ciclinaD1 mediante IHQ(21). Si se observa la sobreexpresión homomogénea 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(22, 23). 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(24, 25). 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia IV).
5. Se aconseja identificar la positividad y el porcentaje estimado de células positivas para CD30 y CD5 en cada caso de LBDCG. (Grado C, nivel de evidencia IV).
6. Paneles de segunda línea: Necesario en casos con morfología inmunoblástica/plasmablástica: CD138, CD38, Ki67, MUM1, C-MYC, HHV-8, ALK, EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1). (Grado C, nivel de evidencia IV).
7. Paneles de segunda línea: Necesario en casos con sospecha de linfoma B EBV positivo: EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1). (Grado C, nivel de evidencia IV).
8. FISH de *MYC* y *BCL2* en todos los casos de LBDCG, particularmente en aquellos con fenotipo GCB. Si se encuentra *MYC* reordenado mediante FISH es de utilidad identificar el posible reordenamiento de *BCL6*. (Grado C, nivel de evidencia 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 anatomopa-

tológico e indica el diagnóstico de Linfoma B de alto grado DH/TH. (Grado C, nivel de evidencia IV).

10. Si se observa la sobreexpresión homogénea e intensa de ciclina D1 mediante IHQ es necesario realizar FISH de CCND1 para descartar una forma pleomórfica de LCM. (Grado C, nivel de evidencia IV).
11. La demostración de alteraciones de MYC y ALK en casos de morfología inmunoblástica/plasmablástica mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable pero no estrictamente necesaria para un diagnóstico. (Grado C, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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. 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.
7. 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.
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. 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.

10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Xu-Monette ZY, Tu M, Jabbar KJ, Cao X, Tzankov A, Visco C, et al. Clinical and biological significance of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. *Oncotarget*. 2015 Mar;6(8):5615-33.
17. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2375-90.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. Valera A, Balagué O, Colomo L, Martínez A, Delabie J, Taddesse-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.

23. Valera A, Colomo L, Martinez 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.
24. 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.
25. 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.

## LINFOMA B DE ALTO GRADO DOBLE HIT/TRIPLE HIT/NOS

### 1. DEFINICIÓN:

Esta categoría diagnóstica en la actual clasificación de la OMS es un grupo 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: 1) una morfología atípica para LB con áreas con una celularidad mixta de tamaño intermedio y grande, mitosis, patrón en cielo estrellado (morfologías de tipo intermedio entre linfoma de Burkitt y LBDCG, semejantes a LB o LB-like), 2) una morfología de aspecto blastoide, 3) una morfología de linfoma B difuso de célula grande. Si el caso tiene una morfología uniforme concordante con LBDCG se incluirá en esta categoría en el caso de que se demuestre doble o triple reordenamiento de los genes MYC, BCL2 y/o BCL6(3). En caso de que el caso presente morfología de LBDCG y un reordenamiento aislado de MYC se seguirá considerando LBDCG. Un porcentaje de estos casos representan la transformación de un Linfoma B Folicular de bajo grado previo(4, 5). Se reconoce que un porcentaje de casos de linfoma B folicular transformado pueden presentar una morfología y fenotipo equivalentes a linfoma B linfoblástico, junto con DH genético. Estos casos se excluyen de la categoría de Linfoma B de alto grado, según la OMS(3), aunque su conducta biológica no es equivalente a la del Linfoma B linfoblástico.

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(6-8)) y un pronóstico muy adverso(4-6, 8). 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, 8).

### 2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA 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).

### 3. 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(9).

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.

#### 4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Los casos de Linfoma B de alto grado DH/TH/NOS plantean el diagnóstico diferencial con leucemia/linfoma linfoblástico de precursores B, linfoma B de células del manto (variante blastoide), Linfoma B Difuso de Células grandes y linfoma de Butkitt.

#### 5. 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%)(8, 10). En algunas series publicadas la sobreexpresión intensa de BCL2 se encuentra en hasta el 79% de los casos(8) 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(7, 8). La expresión franca de TdT por parte de la neoplasia es un criterio en contra el diagnóstico de Linfoma B de alto grado DH/TH.

**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.

#### 6. CITOGENÉTICA.

El análisis de FISH es necesario para demostrar la presencia de traslocaciones de MYC, BCL2 y BCL6. Esta categoría aglutina casos con DH/TH y morfología diversa (con rasgos intermedios entre LB/LBDCG, blastoide y LBDCG) con casos con morfología intermedia entre LB/LBDCG o blastoide sin presencia de DH/TH (Linfoma B de alto grado NOS). 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(6). 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(4, 5). Es destacable, no obstante, que entre el 30%-67% de los casos con morfología intermedia entre LB y LBDCG puede no tener traslocaciones de MYC(7, 8), considerándose Linfomas B de alto grado NOS.

Así, la detección de reordenamientos de MYC, BCL2 y BCL6 mediante FISH con sondas de tipo BA debe hacerse en todos los linfomas con patrones morfológicos de linfoma B con rasgos intermedios entre LB/LBDCG, linfoma B blastoide y LBDCG convencional (particularmente en aquellos con fenotipo GCB). 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, nivel de evidencia IV).
2. El diagnóstico de linfoma B de alto grado se puede establecer en el caso de que se observe un patrón morfológico de linfoma B intermedio entre LB y LBDCG o un patrón morfológico blastoide, una vez excluido linfoma B linfoblástico. Si el caso presenta DH/TH se diagnosticara como Linfoma B de alto grado DH/TH. Si no se identifica DH/TH se diagnosticara como Linfoma B de alto grado NOS.
3. El diagnóstico de Linfoma B de alto grado DH/TH requiere de la demostración de reordenamientos de MYC y BCL2 o MYC y BCL6 o MYC/BCL2 y BCL6. Se excluyen casos que cumplen con criterios de linfoma B folicular (en ausencia de un componente difuso de alto grado) y linfomas B linfoblásticos (TdT positivos).
4. Una morfología típica de LBDCG puede presentar DH/TH. Estos casos, en su gran mayoría presentan un fenotipo GCB. (Grado C, nivel de evidencia IV).

5. Se recomienda hacer constar en el informe si el caso de Linfoma B de alto grado se desarrolla en el contexto de un linfoma B folicular previo. (Grado C, nivel de evidencia IV).
6. 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 considerarse LB atípico.
7. La detección de reordenamientos de MYC, BCL2 y BCL6 mediante FISH con sondas de tipo BA debe realizarse en todos los linfomas sugestivos de linfoma B de alto grado e idealmente en todos los casos con morfología de LBDCG. (Grado C, nivel de evidencia IV).
8. 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, nivel de evidencia 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. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2375-90.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
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.

## 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). 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 <1% en ganglios linfáticos sin sospecha clínica de linfoproliferativo y su riesgo de transformación a LCM establecido muy limitado (6-8).

### 2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA 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).

### 3. 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).

### 4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

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, linfoma B de alto grado 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).

### 5. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) e HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (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 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 IHQ:** CD45 (ALC), CD20, CD3, CD5, CD23, Ki-67, CICLINAD1.

**Panel de segunda línea IHQ:** SOX11, p27, p53, CCDN2.

## 6. 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 pueden presentar 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 sí 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, CICLINAD1. (Grado C, nivel de evidencia IV).
2. Panel de segunda línea IHQ: SOX11, p27, p53, CCDN2. (Grado C, nivel de evidencia IV).
3. La detección de la expresión de SOX11 mediante IHQ es necesaria en las formas de LCM ciclinaD1 negativos. (Grado C, nivel de evidencia 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.
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 CICLINAD1 es suficiente para el diagnóstico en los casos de LCM típico (Grado C, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia IV).
7. El análisis de cariotipo no es necesario pero sí recomendable en el proceso diagnóstico habitual del LCM. (Grado C, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia 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, Salameo 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. Carvajal-Cuenca A, Sua LF, Silva NM, Pittaluga S, Royo C, Song JY, et al. In situ mantle cell lymphoma: clinical implications of an incidental finding with indolent clinical behavior. *Haematologica.* 2011 Nov.
8. Bermudez G, González de Villambrosía S, Martínez-López A, Batlle A, Revert-Arce JB, Cereceda Company L, et al. Incidental and Isolated Follicular Lymphoma In Situ and Mantle Cell Lymphoma In Situ Lack Clinical Significance. *Am J Surg Pathol.* 2016 Mar.
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 immunotherapy: 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. *The American journal of pathology.* 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/Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto/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 (usualmente) 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 aumentar 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 DIAGNÓSTICOS

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, nivel de evidencia IV).

2. En la biopsia de MO, realizar siempre un estudio IHQ con panel de primera línea. (Grado C, nivel de evidencia 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, nivel de evidencia IV).
4. En casos de morfología plasmablástica o anaplásica, valorar el diagnóstico diferencial con infiltración por LNH y metástasis de proceso no hematológico respectivamente.
5. En casos de morfología linfoplasmocitoide o mixta linfoide y plasmocelular, valorar el diagnóstico diferencial con linfoma B linfoplasmacítico y otros linfomas B indolentes.
6. Valorar el diagnóstico diferencial con linfomas de célula B en casos de plasmocitoma extraóseo.

#### 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.

### CAPÍTULO 3. LINFOMA DE HODGKIN y LINFOMA DE LA ZONA GRIS (LINFOMA B INCLASIFICABLE CON RASGOS INTERMEDIOS ENTRE LBDCG Y LHc)

Autor para la correspondencia: Juan Fernando García ([jfgarcia@mdanderson.es](mailto:jfgarcia@mdanderson.es))

#### 1. DEFINICIÓN:

##### LINFOMAS DE HODGKIN

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<sub>FH</sub> (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%).

##### LINFOMA B INCLASIFICABLE, CON RASGOS INTERMEDIOS ENTRE LBDCG Y LHc.

En la clasificación de la OMS 2016, se mantiene como entidad definida por la presencia de rasgos morfológicos y fenotípicos intermedios o superponibles entre LHc y LBDCG, habitualmente linfoma B difuso primario mediastínico; los casos muestran hiper celularidad, presencia de típicas células HRS, CD30+, CD15 variable, muy numerosas y con patrones difuso o nodular y expresión intensa de marcadores de línea B (CD20, CD79a, PAX5, OCT2, CD19). Se acepta la expresión débil o ausencia de expresión de algún marcador B (i.e CD20) si otros marcadores B son positivos. (3, 10). La mayoría de los casos se presentan en el mediastino en varones jóvenes. Son tumores agresivos con incidencia de recaída mayor que en cada una de las entidades "puras". Aunque aun deben definirse estrategias óptimas de tratamiento, los datos actuales sugieren que terapia agresiva tipo linfoma B primario mediastínico (EPOCH, DA-EPOCH) asociado a Rituximab puede obtener una alta tasa de remisiones (11).

Linfomas compuestos y linfomas secuenciales (HLc en una biopsia y linfoma B difuso primario mediastínico en la recaída, o viceversa) son fenómenos relacionados con esta entidad. Se excluye de este concepto tumores agresivos resultado de la transformación de linfomas de bajo grado, así como la presencia de células tipo RS en otros tipos de linfomas B y T reconocibles.

#### 2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA 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 DIAGNÓSTICOS

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 (12).
  - 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) (13,14).
- 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) (15).

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. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-2390.
11. Evens AM, Kanakry JA, Sehn LH, et al. Gray zone lymphoma with features intermediate between classical Hodgkin lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma: characteristics, outcomes, and prognostication among a large multicenter cohort. *Am J Hematol*. 2015;90(9):778-783.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.



## CAPÍTULO 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 positivities "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 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 linfóide 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)). De acuerdo con el panel IHQ de primera línea propuesto, se puede sustentar un diagnóstico de LLB de acuerdo con los siguientes perfiles resultantes:
  4. LLB-B: CD79a+, PAX5+, CD10+, TdT+, CD3-, CD7-, mieloperoxidasa-. Grado C. Evidencia nivel IV
  5. LLB-T: CD3+, CD7+, TdT+, CD10- (puede ser+), CD79a-, PAX5-, mieloperoxidasa-. Grado C. Evidencia nivel IV
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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 linfóide para apoyar un diagnóstico de proceso linfoproliferativo. Grado C. Evidencia nivel IV

**REFERENCIAS**

1. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla-Martínez L. Hematopathology. Second Edition. Saunders, 2017.
2. 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.
3. Moorman AV. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood* 2012; 26(3):123-35.
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 DE CÉLULAS T PERIFÉRICO (NOS), LINFOMAS GANGLIONARES DE CÉLULAS T CON FENOTIPO FOLLICULAR HELPER Y LINFOMA DE CÉLULAS GRANDES T 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.

Se distinguen las siguientes categorías: el linfoma de células T periférico no específico (NOS) (LCTP), Linfomas ganglionares de células T con fenotipo *follicular helper* (LCTFH) y el linfoma de células grandes T anaplásico (LCGAT) ALK+ y ALK-. Los LCTFH incluyen el linfoma T angioinmunoblástico (LTAI), el linfoma de células T folicular (LTF) y otros linfomas T ganglionares con fenotipo *follicular helper* no específicos (LCTFH NOS).

**LINFOMA DE CÉLULAS 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, mayoritariamente ganglionares, que no cumple 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 LTP 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 con mayor frecuencia difuso, aunque no siempre (p. ej., variante “zona T”, con patrón perifolicular).

El acompañamiento vascular e inflamatorio también es variable. Puede haber abundantes grupos de histiocitos epitelioides (“variante linfoepitelioides” o “de Lennert”, que tiende a permanecer más tiempo localizada en ganglios y a tener mejor pronóstico).

Un subgrupo de LCTP (“LCTP citotóxico NOS”) puede presentar fenotipo citotóxico, con expresión de uno o más marcadores de este tipo: TIA1, perforina, granzima B (GZB). Son más frecuentes en Asia y parecen tener peor pronóstico, salvo cuando se asocian a histología tipo “linfoma de Lennert”.

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 IDÓNEA 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

Los casos de LCTP plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una gran variedad de procesos:

- Otros linfomas
  - Linfoma T angioinmunoblastico.
  - Linfoma de células grandes T anaplásico.
  - 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 GZB y/o perforina). Adicionalmente, en el diagnóstico diferencial se debe tener en cuenta:

- En el diagnóstico diferencial con linfoma T angioinmunoblastico y otros linfomas ganglionares con fenotipo TFH (“T follicular helper”) se deben incluir marcadores de células dendríticas foliculares (CD23 y/o CD21) y marcadores de linfocitos TFH (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 T anaplasico 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. Se pueden encontrar reordenamientos monoclonales de IGH en un subgrupo de casos de linfoma T, tanto LCTP como LTAI (v. más adelante).

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. La presencia de clonalidad linfoide T en un contexto morfológico y fenotípico apropiado (fenotipo aberrante) favorece el diagnóstico de proceso linfoproliferativo. Hay que recordar, sin embargo, que en algunos casos se puede observar clonalidad B.

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. Es interesante señalar, sin embargo, que dichas alteraciones son diferentes a las que se observan en otros linfomas T, como el linfoma T angioinmunoblástico y el linfoma anaplásico de células grandes T.

Se están identificando mutaciones en diversos genes (mediadores epigenéticos, vías señaladoras y supresores tumorales) que en el futuro podrán mejorar la clasificación de estos tumores o suponer nuevas dianas terapéuticas.

#### 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. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla-Martínez L. *Hematopathology.* Second Edition. Saunders, 2017.
3. Savage KJ. *Blood Rev.* Peripheral T-cell lymphomas. 2007 Jul;21(4):201-16.
4. 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.
5. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, Advani R, Ghielmini M, Salles GA, Zelenetz AD, Jaffe ES. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016;127(20):2375-90.
6. 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.
7. 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.

## LINFOMAS GANGLIONARES DE CÉLULAS T CON FENOTIPO *FOLLICULAR HELPER*: LINFOMA T ANGIOIMUNOBLÁSTICO, LINFOMA DE CÉLULAS T FOLICULAR Y OTROS LINFOMAS T GANGLIONARES CON FENOTIPO *FOLLICULAR HELPER* NO ESPECÍFICOS.

La característica común de esta categoría es la expresión por parte de las células T neoplásicas de un fenotipo FH, definido como la expresión de al menos 2 de los siguientes marcadores: PD1 (CD279), CD10, BCL6, CXCL13, ICOS, SAP y CCR5. Además de un fenotipo común, en estos tumores se observan alteraciones moleculares y citogenéticas compartidas (alteraciones que en un futuro podrían tener relevancia terapéutica).

Sin embargo, entre los tipos de linfomas englobados en esta categoría existen diferencias clinicopatológicas que justifican un diagnóstico más específico. Debemos distinguir, por tanto, entre linfoma T angioimmunoblástico (LTAI), linfoma de células T folicular (LTF) y linfomas T ganglionares con fenotipo *follicular helper* no específicos (LCTFH NOS). Los dos últimos se incorporan a la clasificación de la OMS de 2016 como entidades provisionales.

### LINFOMA T ANGIOIMUNOBLÁSTICO

#### 1. DEFINICIÓN:

El linfoma T angioimmunoblástico (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 positiva para EBV-EBER. Estas células B pueden adoptar una morfología semejante a células de Hodgkin y Reed-Sternberg, incluso con positividad para CD30 y CD15, que puede ser causa de error diagnóstico.

El diagnóstico de linfoma B de células grandes asociado (frecuentemente EBV+) requiere la existencia de grandes grupos cohesivos de células B atípicas. De igual forma, 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.

## 2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA 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

- 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 (trisomía 3, trisomía 5, cromosoma X adicional) no son necesarios para diagnóstico rutinario. Tampoco se requieren estudios mutacionales, que descubren con frecuencia mutaciones de TET2, RHOA, DNMT3A e IDH2; gran parte de estas alteraciones, a excepción quizá de IDH2, parecen ser compartidas por las entidades provisionales que se describen a continuación.

**Entidades provisionales: linfoma de células T folicular (LTF) y linfomas T ganglionares con fenotipo follicular helper no específicos (LCTFH NOS)**

El LTF se caracteriza por crecimiento folicular o perifolicular de células neoplásicas con fenotipo TFH. Carece del infiltrado difuso polimorfo y la prominente vascularización del LTAI. Como este último, también puede presentar células blasticas B, a menudo EBV+. Se suele presentar de forma más localizada y con menor sintomatología general.

El LCTFH NOS comprendería casos que presentan fenotipo FTH pero carecen de las características histológicas descritas en los tipos precedentes.

#### 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, Feroni L, Carter GI,

- Hummel M, Bastard C, Davi F, Delfau-Larue MH, Kneba M, van Dongen JJ, Beldjord K, Molina TJ. Powerful 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. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla-Martínez L. *Hematopathology*. Second Edition. Saunders, 2017.
  5. 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
  6. 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.
  7. Quintanilla-Martínez 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.
  8. 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.
  9. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, Advani R, Ghielmini M, Salles GA, Zelenetz AD, Jaffe ES. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.
  10. 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.
  11. 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.

## 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+**.

En la nueva clasificación de la OMS de 2016 se incorpora también el **LCGTA ALK-** como entidad clínica que incluye subtipos citogenéticos con implicaciones pronósticas (p. ej., reordenamientos de IRF4/DUSP22 en 6p25 y reordenamientos de TP63)

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 perivascolar.
- 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 grandes 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.

Los LCGTA ALK- pueden mostrar, como los ALK+, un amplio espectro morfológico. De hecho, morfológicamente han de ser indistinguibles. No se reconoce, sin embargo, una variante de células pequeñas entre los ALK-, ya que no existen marcadores fenotípicos ni moleculares que permitan distinguirlos de LCTP NOS que expresen CD30. Los criterios mínimos para diagnosticar LCGTA ALK- son: presencia de células "hallmark", patrón de crecimiento cohesivo y expresión intensa y uniforme de CD30. Otras características indicativas, aunque no imprescindibles, son la pérdida parcial de marcadores T, fenotipo citotóxico, positividad para EMA y crecimiento intrasinusoidal.

## 2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA 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

**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.

Con respecto al **LCGTA ALK-**, se distinguen dos grupos con características citogenéticas y clinicopatológicas diferentes: uno con reordenamientos de DUSP22 (DUSP22-IRF4 en 6p25, ≈30% de los casos), que tiende a ser más monomorfo, sin gránulos citotóxicos y con mejor pronóstico, y otro con reordenamientos de TP63, menos frecuente (≈10%) y muy agresivo.

#### RECOMENDACIONES

1. Recordar que no todos los LCGAT ALK+ muestran la gran cantidad de células “hallmark” típicas de la variante clásica. Por ello, debido a la gran variabilidad morfológica de estos tumores, no se ha de dudar en incluir ALK1 en el panel de estudio IHQ cuando exista alguna posibilidad de estar ante un LCGAT. Grado C. Evidencia nivel IV.
2. Ante una alta sospecha diagnóstica de LCGTA ALK+ variante clásica (patrón cohesivo, abundantes células “hallmark”, positividad para CD30 y EMA), si ALK1 resulta negativo es aconsejable, antes de realizar el diagnóstico de LCGTA ALK-, repetir la inmunotinción (idealmente con otro anticuerpo frente a ALK) y/o realizar FISH con sonda breakapart para el gen ALK. Grado C. Evidencia nivel IV.
3. Panel de primera línea: CD45, CD43, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD20, PAX5, CD30, EMA, ALK1. 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 criterios mínimos para diagnosticar LCGTA ALK- son: presencia de células “hallmark”, patrón de crecimiento cohesivo y expresión intensa y uniforme de CD30. De todas formas, es recomendable remitir estos casos a centros con larga trayectoria y experiencia en el diagnóstico de neoplasias hematolinfoides. 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.
2. Feldman AL, Dogan A, Smith DI, et al. Massively parallel mate pair DNA library sequencing for translocation discovery recurrent t(6;7)(p25.3, q32.3) translocations in ALK negative anaplastic large cell lymphomas. *Blood* 2010; 116: 278.
3. Lamant L, McCarthy K, d'Amore E, et al. Prognostic impact of morphologic and phenotypic features of childhood ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma: results of the ALCL99 study. *J Clin Oncol.* 2011
4. Lamant-Rochaix L, Feldman AL, Delsol G, et al. Anaplastic large cell lymphoma, ALK positive and ALK negative. En: Jaffe ES, Arber DA, Campo E, et al. *Hematopathology. Second Edition.* Saunders, 2017: 673-691.
5. Delsol G, Jaffe ES, Falini B, et al. Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK-negative En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al (Eds.). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition.* IARC: Lyon 2008: 317-319.
6. Mason DY, Campo E, Harris NL, et al. Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK-positive En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al (Eds.). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition.* IARC: Lyon 2008: 312-316.
7. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, Advani R, Ghielmini M, Salles GA, Zelenetz AD, Jaffe ES. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127: 2375.

### **4c. 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 pronósticas 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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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 linfoide vs NK; linfoide 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%	-	-	-	+	-	$\alpha\beta$	-
LGL**	+	+/-	+/-	-	+85%	-	+	-/+	+	+	activados	$\alpha\beta$	-
cNK***	+citop	-	-	-	+/-	-	+	+	-	?	activados	-	-
aNK	+citop	-	-	-	-	-	+debil	+	+	?	activados	-	+
NK/T***	+citop	-	?	-	-	+30%	-/+	+	-/+	+25%	activados	-	+
EBV-TLPD pediátrico	+	+	-/+	-	+	-/+	+/-	-	-	?	Tia-1	$\alpha\beta$	+
HSTL	+	-	-	-	-/+	-	+	+/-	-	-/+	incompleto	$\gamma\delta > \alpha\beta$	-/+
ATLL	+	+	-	+	-	+	+/-	+/-	+/-	+	-	$\alpha\beta$	-
EATL tipo I	+	+	-	-	+	+25%	+/-	+	+/-	?	activados	$\alpha\beta$	-

\* 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 CITOGENÉTICO/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 lymphocytic leukemia. *Blood.* 2014 Jun 19;123(25):4817-25. doi:10.1182/blood-2013-11-531111. PubMed PMID: 24781111.

- phoproliferative 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, Hagemeijer 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.

## CAPÍTULO 5. LINFOMAS PRIMARIOS CUTÁNEOS.

Autor para la correspondencia: María Rodríguez Pinilla ([smrodriguez@fjd.es](mailto:smrodriguez@fjd.es))

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 (%)*
<b>Curso clínico indolente:</b>	
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
<b>Curso clínico agresivo:</b>	
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 (LACGPC).

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-EPIDERMOTRÓPICO 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 pániculo 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 CÉLULAS 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 linfoplasmocitoides 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 IDÓNEA 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 DIAGNÓSTICOS**

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 *DUSP22* (6p25.3). Adicionalmente se ha descrito la presencia de la translocación del locus 6p25.3 afectando al gen *DUSP22* 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 infrecuente 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 diagnóstico. 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  
Panel de segunda línea: Grado C. Evidencia nivel IV
5. Línea T: CD5, CD7, TCRBF1, TCRGamma, CD56, ALK, EBV-EBER, PD1.
6. Línea B: BCL2, BCL6, CD10, KAPPA, LAMBDA, MUM1.
7. 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
8. 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
9. 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.

## CAPÍTULO 6. NEOPLASIAS DE CÉLULAS HISTIOCÍTICAS. NEOPLASIAS DE CÉLULAS DENDRÍTICAS.

Autor para la correspondencia: Antonio Martínez ([ANTONMAR@clinic.ub.es](mailto: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 IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

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



# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE NEFROLOGÍA DE LA SEAP

*Coordinadora: Rosa María Ortega (rosam.ortega.sspa@juntadeandalucia.es)*





# Anatomía Patológica y Nefrología

Eduardo Vazquez Martul

A Coruña

## I. INTRODUCCIÓN

No es necesario remover la historia de la medicina para demostrar la importancia de la Anatomía Patológica y de la biopsia renal en el actual conocimiento de las enfermedades renales. La búsqueda del origen de la hematuria y de la proteinuria, estimuló a Richard Bright (1.789-1.858), padre de la Nefrología, al estudio y observación histológica de las lesiones renales. Posteriormente guiados por el mismo interés Volhard y Fhar en 1914, hacen una primera clasificación histopatológica que intentan relacionar las lesiones agudas, crónicas y degenerativas con una determinada clínica. A partir de estos momentos iniciales, y como ha ocurrido en otros campos de la medicina, el estudio histopatológico ha permitido hacer una clasificación de las enfermedades renales cuyo resultado ha mejorado la calidad de la comunicación entre expertos en la Nefrología, y a la vez ha promovido una estructura lógica para la categorización de pacientes de cara a estudios epidemiológicos, pronósticos y terapéuticos. Pero una opinión importante que demuestra la relación íntima entre Nefrología y Anatomía Patológica es la de Gabriel Richet (1.948) padre de la nefrología francesa, al constatar que la Nefrología no solo es una rama de la medicina Interna sino que se fundamenta en estudios biológicos y en la observación de la patología renal. En la historia más reciente, Robert Berliner, conocido como "el decano de la fisiología renal" define a la Nefrología como "*disciplina en la que el microscopio óptico, la aplicación de la inmunofluorescencia, y la utilización del microscopio electrónico es indispensable*". Otra demanda actual de los servicios de Anatomía Patológica por los servicios de Nefrología viene realizada por la implantación del programa de trasplante renal, hoy día ya generalizado en cualquier hospital de referencia. La participación directa del Servicio de Anatomía Patológica en los programas de trasplante en gran parte viene dado porque *la biopsia del injerto continúa siendo la única prueba diagnóstica que con mayor grado de fiabilidad permite confirmar la existencia de un rechazo y por consiguiente un tratamiento inmunosupresor adecuado*.

Por consiguiente hoy día es recomendable que textos de patología renal escritos por eminentes patólogos, tales como *Heptinstall, R. Colvin, Ivette.d`Agati*, deberán estar al lado del microscopio del patólogo antes de emitir un diagnóstico y realizar un informe anatomopatológico.

## II. LA ENFERMEDAD CRÓNICA RENAL UNA ENFERMEDAD EN AUGE

Pero esta exigencia de utilizar una metodología diferenciada que aconseja un patólogo experto, viene potenciada por otro factor nada despreciable que es el económico-sanitario. Es notorio, y así lo demuestran todos los índices sanitarios, que la población de pacientes en insuficiencia renal crónica crece de forma constante y en países desarrollados la prevalencia crónica es de un 11% en población adulta (Semin Nephrol. 2002 Nov;22(6):441). En España hay más de 48.000 pacientes en fase renal crónica, con una incidencia anual

superior a 5.000 lo que significa cada año 6.000 pacientes necesitan un tratamiento sustitutivo de diálisis. (Nefrología. 2007;27(3):300-12). La IRC representa entre el 1.6 y el 2.5 del total del gasto sanitario (1.400 mill Euros). *Los 50.000 pacientes renales en estadio V consumen un 2,3 por ciento del presupuesto sanitario.* (Martínez Castela. Nephrol. 2011,12:53).

Es necesario enfatizar que en todo el gasto sanitario que genera esta patología no están incluidos la repercusión directa que la enfermedad renal crónica tiene en el desarrollo y aceleración de la cardiopatía isquémica, la enfermedad vascular metabólica, que en constante progresión, incrementa todavía más los costos sanitarios ya de por sí elevados.

### III. VALOR DE LA BIOPSIA RENAL Y LOS SERVICIOS DE A. PATOLÓGICA

Hoy día sería difícil de explicar la no realización de una biopsia renal ante un cuadro nefrótico que no responde a corticoides, un deterioro grave agudo o crónico de la función renal, la repercusión renal de una enfermedad sistémica, o ante una disfunción del injerto renal.

Debemos constatar que gracias a los servicios de Anatomía Patológica, que reciben, procesan y estudian las biopsias, conocemos, por medio de la sociedad Española de Nefrología y del Registro español de Glomerulonefritis, la incidencia y prevalencia de las diferentes enfermedades con patología renal en nuestro país. A pesar de esta información debemos aceptar como hecho negativo que alrededor de un 50% de pacientes con Insuficiencia Renal Crónica se desconoce la causa de dicha enfermedad, y en muy pocos casos existe registro de estudio completo con microscopio electrónico. Sin duda alguna tanto la SEAP como la SEN deberán analizar las causas por lo que en España no existan centros en los que haya un patólogo experimentado con infraestructura dotada de laboratorio de procesamiento especial que incluya inmunofluorescencia o inmunohistoquímica y microscopio electrónico.

El alto costo que conlleva el estudio de la biopsia renal y la exigencia de un conocimiento especializado por parte del patólogo obliga a una planificación a nivel autonómico y estatal del estudio de la biopsia renal. La gran dispersión de servicios de nefrología, incluso en centros de ámbito comarcal que conlleva un bajo número de biopsias renales, impide la dotación de patólogos expertos en enfermedades renales e incluso conlleva que la realización de la biopsia renal no sea rentable ni desde el punto de vista sanitario ni por supuesto económico siempre que no se garantice la fiabilidad de un diagnóstico histopatológico.

### IV. NECESIDADES DE UNA NUEVA PLANIFICACIÓN. CENTRALIZACIÓN DE ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS.

La complejidad del estudio de la enfermedad renal, el alto costo de los procesos clínicos y del tratamiento del paciente nefrológico demanda cada vez mayor con más insistencia una nueva organización de tipo horizontal en nuestros hospitales que se aleje de la estructura clásica vertical en bloques de especialidades médicas que impiden el trabajo en equipo. Esta organización horizontal en equipos exige la presencia integrada de anatomopatólogos expertos en nefrología que aporten su conocimiento y experiencia. La demanda de nefropatólogos o de anatomopatólogos con la formación suficiente para afrontar el reto asistencial y científico es una realidad actual que está demandando una respuesta por parte de las sociedades científicas implicadas y la administración sanitaria.

Existen indicadores suficientes que obligan a las sociedades científicas interesadas, y concretamente a la sociedad científica de Anatomía Patológica (SEAP) a limitar al máximo este desequilibrio. Seguro que son varios los factores desequilibrantes pero uno de ellos es que la Nefropatología como tal no es, ni ha sido nunca una subespecialidad formalmente desarrollada y menos aún una área dentro de la Anatomía Patológica que haya motivado nuevas vocaciones a excepción de algún ejemplo aislado. Contrariamente a lo que ocurre en USA en donde se han centralizado los estudios de la biopsia renal, en nuestro país ha sido una constante la política de "descentralización", errónea en mi opinión, que transforma un método diagnóstico

necesario en un acto a veces “voluntarista” que impide alcanzar niveles de calidad y de experiencia necesaria incrementando el costo y haciendo dudoso el resultado.

Creo que es importante reflexionar sobre la actividad del nefropatólogo no como una especialidad independiente sino como un *elemento básico integrador* dentro de un equipo multidisciplinario cuyo fundamental objetivo será el estudio de las enfermedades renales, no solo desde el punto de vista histopatológico y ultraestructural, sino abordando en toda su extensión la enfermedad nefrológica, desde la microscopía óptica hasta la biología molecular. Nunca podrán surgir resultados de calidad ajustados a un costo que los haga eficientes, si no se conoce en profundidad el área de conocimiento específico como es la patología renal.



# Manejo de la biopsia renal y técnicas diagnósticas utilizadas en nefropatología

Pablo Cannata

Anatomía Patológica. Fundación Jiménez Díaz, Madrid

## I. PROCEDIMIENTO DE LA BIOPSIA

La realización de la biopsia renal y las muestras de tejido que con ello se obtienen comprende preferentemente tres modalidades diferentes:

- a) **Biopsia percutánea** con aguja mediante pistola automática, la más utilizada, guiada por ecografía. Las realizan generalmente radiólogos intervencionistas, a veces urólogos y en algunos centros el propio nefrólogo. El procedimiento generalmente es ambulatorio sin requerir ingreso en el hospital, no obstante las posibles complicaciones limitan su uso respecto a las biopsias de otros órganos realizadas mediante procedimientos menos cruentos. Por este motivo es importante la formación de los nefrólogos en la realización de biopsias renales, pues son ellos quienes mejor valorarán el riesgo/beneficio y por tanto la rentabilidad del procedimiento en cada caso.
- b) **Biopsia transyugular**, recomendada en pacientes con alto riesgo de hemorragia, las muestras son más delgadas, a veces fragmentadas y de menor calidad diagnóstica.
- c) **Biopsia quirúrgica en cuña**, utilizada preferentemente para la valoración del injerto previo al trasplante, mediante la que se obtiene una muestra más superficial de corteza renal.

El tamaño de las biopsias ha evolucionado con los años, las agujas más utilizados hoy en día son 16 G (1,65 mm de diámetro) y 18 G (1,27 mm). A pesar de existir referencias bibliográficas a favor de cada una de ellas, la más idónea es la aguja 16G, ya que la diferencia de diámetro proporciona hasta un 25% más de tejido renal para el diagnóstico, sin que aumente el riesgo de complicaciones respecto a una aguja 18G.

## II. ENVÍO DE LA MUESTRA.

En la mayor parte de los casos el lugar donde se realiza la biopsia y el laboratorio de patología se encuentran en el mismo centro hospitalario o en uno adyacente y el tiempo transcurrido entre la realización y recepción de la muestra es de pocos minutos. En otras ocasiones la muestra se enviará a otro centro que puede estar en la misma ciudad, en otra ciudad próxima o incluso en regiones o países diferentes. En estos casos, el método de envío y preservación de las biopsias renales variará en función del tiempo de transporte desde el lugar de la realización de la biopsia al centro donde será procesada y diagnosticada.

Para biopsias que tardarán pocos minutos en llegar al servicio de patología se remitirán, en un frasco pequeño, al menos dos cilindros renales que se depositarán en una gasa fina empapada en abundante suero fisiológico y doblada sobre sí misma con precaución de no dañar el tejido. De lo contrario el tejido podría

sufrir artefacto de desecación. En el mejor de los casos el patólogo evaluará la representatividad de la muestra mientras el paciente esté aún en el lugar donde se realizó la biopsia para que en caso de que la muestra obtenida no sea representativa, contenga escaso parénquima renal u otros tejidos, pueda realizarse una nueva punción. Junto con el recipiente que contiene la biopsia se remitirá un resumen de la historia clínica con valores analíticos, serológicos y orientación diagnóstica. Es conveniente adjuntar el nombre del médico que solicita la biopsia junto con una forma de contacto por si fuese necesario solicitar información adicional. En ocasiones la remisión de la muestra o la recepción de la misma por el personal adecuado puede sufrir un inesperado retraso de unos minutos. En estos casos lo más conveniente es guardar el frasco que contiene la muestra en una nevera (4°C aprox.) pero nunca en un congelador, pues sufriría artefactos irreversibles.

En aquellos casos en los que la muestra ha de remitirse a otro centro situado en otra ciudad o región y el transporte durará varios minutos incluso pocas horas, lo más indicado es introducir el frasco que contiene la muestra en otro recipiente más grande con hielo o bolsas de gel frío (como las que se encuentran en muchos paquetes que contienen anticuerpos que a diario se reciben en muchos laboratorios). No debe utilizarse en ningún caso nieve carbónica (hielo seco), en contacto con el frasco su baja temperatura (-78°C) provocaría una congelación lenta de la muestra, con el consiguiente artefacto.

Si el transporte de la muestra durara varias horas la muestra deberá remitirse sumergida en un frasco con medio de Zeus o solución de Michel, que no se trata de un fijador sino un medio para el transporte que permite la conservación del tejido sin necesidad de refrigeración y a temperatura ambiente por un periodo de hasta 5 días. Luego, en el centro en el que se recibe la biopsia se procederá a la extracción de la muestra del medio de Zeus y su lavado mediante soluciones tamponadas, que dejarán el tejido en perfectas condiciones para tomar muestra para técnicas de inmunofluorescencia directa (IFD), microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica (ME). En muestras de más de un cilindro existe la posibilidad de introducir tan solo uno de ellos en solución de Michel (medio de Zeus) y el resto del tejido en un frasco con formol. De este modo se gana tiempo, ya que se aprovecha el transporte del tejido para la fijación en formol de la parte que se destinará a MO.

### III. RECEPCIÓN DE LA BIOPSIA

En la biopsia renal, el empleo de diferentes técnicas diagnósticas de manera rutinaria, implica diferentes métodos de procesado, por lo que la selección de los diferentes fragmentos que se destinarán a cada técnica es un punto crucial para obtener la mayor rentabilidad de la biopsia y asegurar la mejor calidad en el diagnóstico, reduciendo al mínimo los sesgos de representatividad tisular.

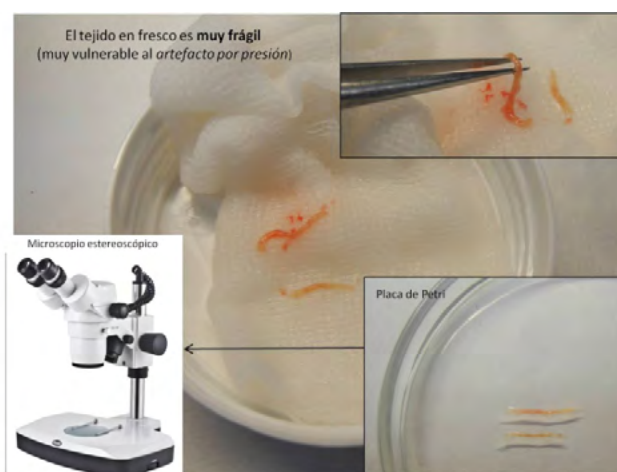
Por ello la biopsia renal no será tratada como el resto de biopsias, debiendo ser manejada con cuidado, por personal cualificado. Además dado que la selección de fragmentos se realizará con la muestra en fresco, hemos de extremar el cuidado debido a la gran vulnerabilidad del tejido en fresco a sufrir artefactos de aplastamiento que podrían comprometer el diagnóstico final.

### IV. ESTUDIO MACROSCÓPICO

El objetivo primordial del estudio macroscópico es valorar la idoneidad de la muestra y seleccionar los fragmentos que destinaremos a cada técnica. Observaremos la muestra remitida bajo un microscopio estereoscópico preferentemente (aunque también se puede utilizar un microscopio convencional con el objetivo de menor aumento).

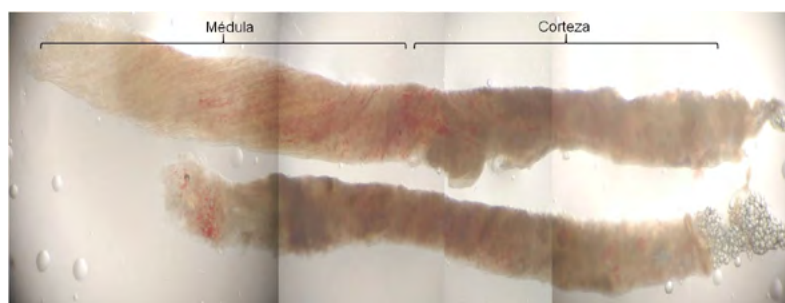
Es muy importante un meticuloso manejo del tejido recibido en el laboratorio de patología para no producir artefactos (de aplastamiento) por la prehensión realizada mediante las pinzas al extraer la muestra de la gasa (Fig.1). Para evitarlo es conveniente no sujetar el cilindro con las pinzas, simplemente levantándolo y separándolo de la gasa humedecida en suero. A veces es complicado ya que la gasa puede deshilacharse al intentar separar el cilindro de la misma. Un truco eficiente para solventar esta incomodidad es aproximar la hoja de un bisturí al cilindro húmedo hasta que se quede pegado en ella y luego con las pinzas cerradas ayudar a separarlo de la gasa y depositarlo sobre la hoja. A continuación aproximaremos la hoja de bisturí con

el cilindro encima hasta una placa de Petri, donde lo depositaremos empujándolo con la pinza cerrada. La placa de Petri constituye el mejor método de observación de la muestra ya que el depositarlo sobre un porta limitaría mucho su manipulación, que además debería ser muy rápida ya que la muestra puede secarse en poco tiempo. Tanto si usaremos un microscopio estereoscópico como uno convencional a menor aumento, ambos emiten una luz que genera calor y podría eventualmente artefactar la muestra por desecación en pocos minutos. Para poder manipular la muestra a nuestro antojo y evitar su desecación pudiendo emplear más tiempo, mojaremos la muestra con unas gotas de suero fisiológico. Bastaría incluso con estrujar ligeramente la gasa sobre la muestra en la placa de Petri.



**Fig. 1.** Examen en fresco de los cilindros renales. A realizar preferentemente sobre una placa de Petri o en su defecto sobre un porta, siempre con unas gotas de suero fisiológico para evitar desecación del material, utilizando microscopio estereoscópico o convencional a bajo aumento.

Observando la muestra mediante el microscopio estereoscópico podremos diferenciar claramente los diferentes compartimentos renales. La médula renal queda de manifiesto al identificarse estriaciones paralelas entre sí que corresponden a los túbulos renales distales y colectores (Fig.2). En ocasiones, en nefropatías que cursan con hematuria se pueden observar estructuras filiformes de color rojo que corren paralelas al resto de estriaciones y que corresponde a material hemático intraluminal. Por el contrario la corteza renal muestra un aspecto más heterogéneo, debido a la presencia de más estructuras diferentes: glomérulos, arteriolas y túbulos renales, que a diferencia de en la médula no corren paralelamente entre sí sino siguiendo trayectos tortuosos y serpenteantes.

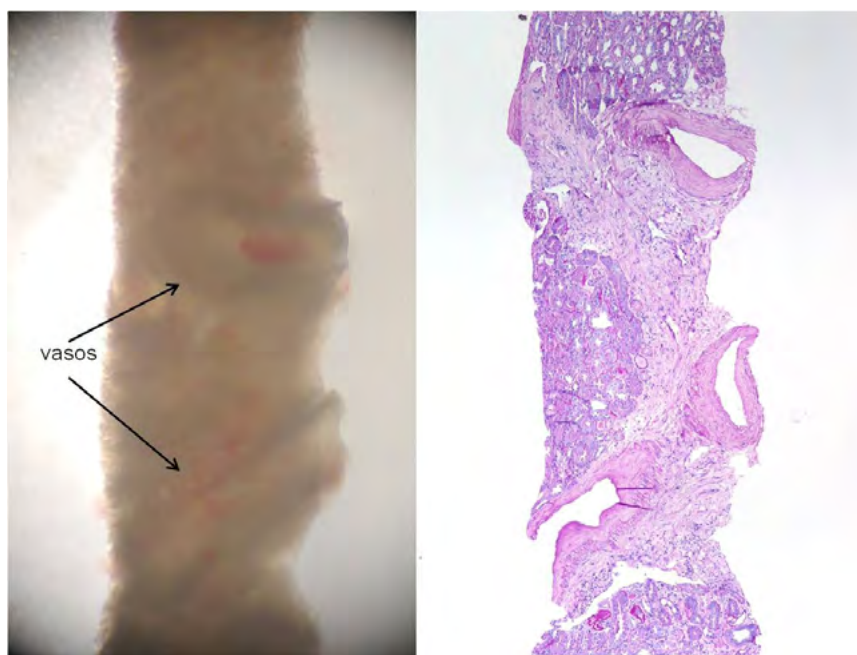


**Fig. 2.** Identificación de los diferentes compartimentos renales. Médula: aspecto homogéneo; estriaciones paralelas (túbulos colectores); corteza: aspecto heterogéneo; diferentes estructuras (túbulos proximales, distales, glomérulos y arteriolas).

Es importante la identificación de los glomérulos ya que su presencia y número nos ofrecerán una idea sobre la representatividad e idoneidad de la muestra. En ocasiones los glomérulos quedan patentes al ob-

servarse estructuras esféricas rojizas que indican la presencia de hematíes en los capilares glomerulares. Por el contrario muchas veces existe un compromiso en la permeabilidad glomerular, que puede responder a diferentes causas, por lo que los glomérulos no se identifican como esferas rojizas. En estas situaciones la refracción de la luz a través del tejido renal nos ayudará a identificar los glomérulos como estructuras esféricas semitransparentes con menor densidad que el parénquima adyacente. Esta diferencia de densidad responde a que fuera del glomérulo, en la corteza renal, las arteriolas y túbulos renales se encuentran densamente 'empaquetados' en un espacio muy reducido que contrasta con el espacio dentro de la cápsula de Bowman, donde el ovillo glomerular se encuentra mucho más distendido en el espacio urinario, lo que le confiere una densidad mucho menor que el tejido cortical adyacente. En la identificación de los glomérulos es de gran ayuda contar con microscopio estereoscópico que permita variar la intensidad y dirección del haz de luz que incide sobre el tejido desde el inferior de la muestra. La refracción de la luz sobre el tejido renal será la que ponga de manifiesto la presencia de los glomérulos como esferas semitransparentes. En algunos casos la visualización de los glomérulos es más complicada, ya que una afectación glomerular que resulte en fenómenos proliferativos glomerulares van a conferir una mayor densidad al glomérulo, equiparándose con la del tejido cortical adyacente y resultando por lo tanto mucho más complicado la identificación y visualización de los glomérulos. En un porcentaje nada desdeñable de casos mediante el microscopio estereoscópico se pueden incluso identificar algunas lesiones glomerulares como por ejemplo algunas proliferaciones extracapilares, que si bien no servirá para hacer diagnóstico, su identificación junto con la correlación mediante los datos clínicos aportados nos pueden ayudar a decidir qué parte del tejido destinaremos a una técnica u otra proporcionándonos la máxima información para el diagnóstico correcto. Del mismo modo en los casos de biopsias de riñón trasplantado es conveniente la identificación de las estructuras vasculares y su inclusión para MO, que será la técnica ideal para poder identificar presencia o no de endarteritis. La identificación de algunas de estas lesiones específicas en los glomérulos se tratará con mayor detalle en el apartado 'estudio macroscópico' de cada nefropatía en cuestión.

La identificación de las arterias no viene dada por el contenido hemático de su luz sino por su pared muscular, que le confiere un aspecto blanquecino y mucho más denso que el tejido adyacente (Fig.3). En muchas ocasiones se puede identificar una gruesa arteria arcuata delimitando la corteza de la médula renal.



**Fig.3.** Identificación de arterias en el examen en fresco de la muestra recibida (correlación de los hallazgos macroscópicos con la microscopía óptica).



La correlación de los hallazgos macroscópicos de los cilindros en fresco con los datos clínicos aportados y orientación diagnóstica, es por lo tanto de vital importancia para una adecuada selección de los fragmentos que destinaremos a cada una de las técnicas.

**a) Biopsia insuficiente.**

A pesar de existir criterios mínimos de representatividad en una biopsia renal (por ejemplo el de Banff: al menos dos cilindros con 10 glomérulos y dos arterias) para considerarla adecuada, ocasionalmente con una lesión definitoria o con un sólo glomérulo se puede hacer el diagnóstico de base, aunque no permite valorar la extensión de la lesión, la distribución de las lesiones, ni el índice de actividad/cronicidad adecuado. Es en esos casos en los que la correcta selección de los fragmentos en el estudio macroscópico juega un papel decisivo para sacar la máxima rentabilidad de la muestra.

**b) Selección de los fragmentos para cada técnica.**

• **Microscopía electrónica.**

Una vez identificados los compartimentos y las posibles lesiones macroscópicas si las hubiese, seccionaremos con la hoja de bisturí un extremo cortical de 1-2 mm que contenga uno o dos glomérulos para ME y lo introduciremos en un criotubo o tubo eppendorf que contenga glutaraldehído al 2% o Karnowski.

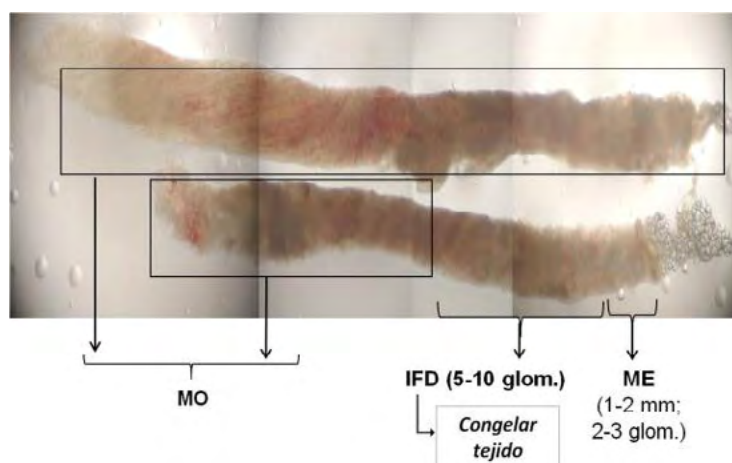
• **Inmunofluorescencia.**

Para IFD seccionaremos un cilindro de cortical renal que contenga al menos 8 glomérulos, podría ser el tejido adyacente al fragmento para ME.

• **Microscopía Óptica.**

Para MO destinaremos el resto del tejido, que puede tratarse de cilindro y medio en caso de recibir dos cilindros o dos y medio en caso de recibir tres. No es necesario reservar un cilindro íntegro para el estudio de IFD ya que salvo excepciones el tejido medular nos ofrecerá poca información en esta técnica y por el contrario sí servirnos mucho más para MO.

Es conveniente informar sobre la sospecha de enfermedades poco frecuentes, hereditarias o que requieran procesados adicionales para otras técnicas moleculares más específicas (Fig.4).



**Fig.4** Representación esquemática de la selección de los fragmentos y la cantidad de tejido para cada técnica diagnóstica.

**V. MICROSCOPIA ÓPTICA**

El material destinado para microscopía óptica se introducirá en una cápsula que se introducirá en formaldehído (formol/formalina) al 4% neutro tamponado (mínimo 12 a 24 horas). Es más ventajoso res-

pecto a otros fijadores menos recomendables como la solución de Duboscq-Bazil, o la solución de Bouin alcohólica.

Si se dispone de más de un cilindro de tejido para MO se recomienda procesar cada uno en cápsulas separadas.

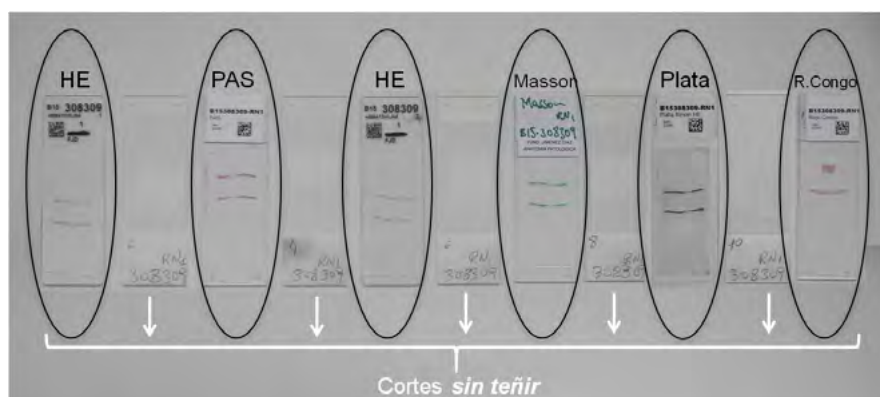
Las cápsulas microperforadas resultan muy convenientes para usar en el procesamiento del tejido. Si se dispone de cápsulas convencionales siempre se puede introducir el cilindro para MO en un papel (p.ej. secante) previamente empapado en formol y doblarlo con precaución de no dañar el tejido. Otros métodos de sujeción dentro de la cápsula, como depositar la muestra entre dos esponjillas de biopsia (que en algunos laboratorios se utilizan con biopsias endoscópicas para mantener la muestra en su lugar y evitar que se pierda durante el procesamiento), están completamente contraindicados para biopsias renales. Al tratarse de tejido en fresco, éste es altamente vulnerable a sufrir artefactos y a pesar que las esponjas mantienen su función de inmovilizar al tejido permitiendo el flujo de las soluciones de procesado, la fina retícula que la forma actúa de una manera incisiva en el tejido, que mostrará múltiples artefactos de aplastamiento que pueden incluso impedir la correcta valoración morfológica.

En el caso de que el cilindro tenga más de 2 cm de longitud y sea extremadamente fino, por la dificultad de hacer el bloque de parafina y orientarlo en el micrótopo y obtener cortes completos, lo recomendable es doblar el cilindro sobre sí mismo en forma de 'U' en lugar de seccionar la muestra ya que no sólo preservamos todas las estructuras sino que además resultará más fácil nivelar que dos fragmentos separados al hacer la cápsula de parafina.

### 1. PROTOCOLO DE CORTE Y TINCIÓN. IMPORTANCIA DE LOS CORTES SERIADOS Y NUMERADOS.

Los cortes histológicos, realizados con un micrótopo de rotación, han de ser finos, de unas 2 µ de espesor y con unos 2-3 cortes por cada porta. Es preferible situarlos perpendiculares al eje mayor del porta y próximos entre sí (permite una fácil localización de una misma lesión en el otro corte), además con los nuevos sistemas de digitalización de preparaciones permitirá un escaneado del porta ocupando un menor espacio virtual que al situar los cortes de manera oblicua.

Es muy importante seguir la pauta de numerar los portas procurando no desperdiciar ningún corte. Así podremos seguir una lesión en las diferentes secciones y portas o un mismo glomérulo a diferentes niveles. Esta numeración es de vital importancia al localizar lesiones segmentarias o para buscar una lesión que no está presente en un porta determinado, pero que sí muestra signos de una probable lesión a otro nivel. También resulta útil para identificar donde empieza y acaba un mismo glomérulo ante casos de representatividad muy limitada, en los que el número de glomérulos por plano de corte es insuficiente y debemos intentar identificar el número total de glomérulos presentes en la biopsia.



**Fig.5** Protocolo de corte de la biopsia renal numerando cada porta. Se recomienda realizar cortes alternos sin teñir entre cada técnica para realizar tinciones complementarias a demanda sin agotar el bloque y además aumentar así la representatividad de la biopsia recibida.

Con el objeto de aumentar la representatividad de la biopsia, y disponer desde el inicio de más cortes para teñir a demanda según los hallazgos observados sin tener que acudir al bloque en una segunda intención para realizar nuevos cortes con el consiguiente desperdicio de tejido, es recomendable realizar una segunda tanda de tinción con todas las técnicas de rutina empleadas en nefropatología (HE, PAS, plata y tricrómico de Masson) intercalando un porta con cortes sin teñir (Fig.5). De este modo no solo se aumenta la representatividad de la muestra disponible sobre el porta evitando que el diagnóstico se quede en el bloque sino que además se dispone desde el inicio de cortes para tinciones específicas. En caso de identificar una lesión en un porta, se tomará el siguiente o precedente para teñirlo con la técnica de histoquímica o inmunohistoquímica deseada que mejor ayude a estudiar la lesión identificada. Otra ventaja es que los cortes no empleados en el diagnóstico podrán preservarse adecuadamente en un biobanco de glomerulopatías tras sumergirlos en parafina para proteger la antigenicidad del tejido.

## 2. TINCIONES BÁSICAS EN NEFROPATOLOGÍA Y SUS APLICACIONES

Todas las biopsias renales son teñidas de manera rutinaria con HE (hematoxilina-eosina), PAS (ácido peryódico de Schiff), Tricrómico de Masson y plata metenamina de Jones. En algunas ocasiones es recomendable realizar adicionalmente alguna otra tinción en función de la clínica del paciente. En muchos laboratorios si la presentación clínica es de síndrome nefrótico, se realizan rutinariamente un corte de rojo Congo. Es importante destacar que esta es una técnica que deberá realizarse sobre cortes más gruesos (7-8  $\mu$ ) que el resto de técnicas (2  $\mu$ ) si no queremos correr el riesgo de falsos negativos.

Cada una de estas técnicas nos ofrece una visión más precisa de una u otra estructura no existiendo predilección de una sobre otra sino que todas se complementan entre sí.

### - *Hematoxilina Eosina*

La técnica más utilizada en anatomía patológica es de gran uso en nefropatología para valorar tanto la arquitectura general de la biopsia como para identificar y tipificar los diferentes elementos celulares presentes en la biopsia así como la presencia de edema intersticial.

### - *PAS.*

El ácido peryódico de Schiff cuya positividad es magenta o fucsia en condiciones fisiológicas nos resaltarán las membranas basales glomerulares y tubulares, el ribete en cepillo en el borde luminal de las células tubulares, material proteináceo y la matriz mesangial, siendo la técnica ideal para valorar la proliferación mesangial. Respecto a las lesiones serán PAS positivos los glomérulos esclerosados por empaquetamiento de los restos de membranas basales y por esa razón es la técnica ideal para realizar un conteo glomerular. También serán positivas lesiones hialinas como la degeneración arteriolar, lesiones como las a veces observadas en las lesiones esclerosantes de la GEFS y otras lesiones insudativas como la gota capsular y el gorro de fibrina en región subendotelial que puede observarse en la nefropatía diabética.

### - *Plata metenamina*

Es la técnica de elección para el estudio de la membrana basal glomerular y sus alteraciones. Pequeños defectos de su típica argirofilia con forma de burbujas en las secciones oblicuas de la membrana basal y 'púas' hacia el espacio urinario en los cortes perpendiculares serán claves para el diagnóstico de nefropatía membranosa. También serán positivas la matriz mesangial, membranas basales tubulares y lesiones fibrosantes o esclerosantes. La contratinción, frecuentemente realizada con hematoxilina, ofrece el contraste entre la positividad del ovillo glomerular y la negatividad de las células epiteliales (tanto epiteliales como viscerales) es de gran utilidad para identificar éstas en proliferaciones extracapilares, gracias a la contratinción frecuentemente realizada con hematoxilina.

### - *Tricrómico de Masson*

Al igual que la plata teñirá membranas basales, matriz mesangial y lesiones fibrosas de verde o azul, dependiendo de que se use azul anilina o verde claro o brillante (comúnmente malinterpretado como 'verde luz'; Light Green) y rojizo claro el citoplasma de células epiteliales tanto del túbulo como de la cápsula de Bowman Su uso en nefropatología tiene especial valor a la hora de localizar depósitos de inmunocomplejos que adoptan un característico color rojo brillante o fucsínófilo. Por desgracia esta gran ventaja ha desapare-

cido en la mayor parte de los casos con automatización, mediante máquinas de tinción. Muy probablemente este hecho no se deba a los aparatos en sí sino a la calidad de los colorantes ya que este defecto puede observarse también con muchas de las soluciones de disponibles para tinción manual. También adoptan un color rojo la fibrina, lesiones de necrosis fibrinoide tanto en glomérulos como paredes vasculares, y trombos.

#### - **Rojo Congo**

Su sensibilidad en el diagnóstico de las Amiloidosis es muy alta siempre y cuando los cortes se realicen a unas 7 micras de grosor.

## **VI. INMUNOFLUORESCENCIA**

La inmunofluorescencia es una de las herramientas más interesantes, eficientes y más valiosas de la nefropatología. No sólo nos ofrece imágenes espectaculares y reveladoras sino que además nos ofrece un enfoque patogénico de la entidad en cuestión. La utilización de anticuerpos contra inmunoglobulinas y factores del complemento nos dan una pista de los posibles mecanismos subyacentes. De hecho los hallazgos mediante la IFD han permitido entender mejor y reclasificar viejas entidades que en el pasado tan sólo se abordaban mediante un enfoque según su afectación morfológica (GNMP), hacia una división cuya base son los mecanismos patogénicos implicados, abriendo una puerta a tratamientos más precisos y eficientes.

No en vano, por esta misma razón la IFD es la base de la nueva clasificación de glomerulonefritis propuesta por la Mayo Clinic y la Renal Pathology Society (RPS).

La IFD, además en líneas generales es más sensible y específica que la inmunohistoquímica, generando mucha menos tinción de fondo e inespecífica.

El estudio mediante inmunofluorescencia se basa en la combinación de la positividad para el/los anticuerpo/s aplicado/s, su/s intensidad/es, el patrón de afectación, su topografía y la distribución de la afectación.

En muchas ocasiones el estudio mediante IFD, que requiere mucho menos tiempo de procesamiento que el material parafinado para MO y puede estar disponible para su estudio, ofrece la suficiente información para realizar un diagnóstico de certeza anterior incluso a la observación del tejido mediante MO y ME.

Para el estudio de inmunofluorescencia se realizarán cortes en un criostato del tejido previamente congelado. La congelación del segmento destinado a la IFD, si bien puede realizarse de diversas maneras, todas ellas válidas, algunos métodos de congelación producirán mucho más artefacto para el estudio histológico, mientras que otros apenas alteran la morfología tisular y por ello son los indicados. En nefropatías por depósito de inmunocomplejos es básica la necesidad de identificar la localización de los mismos a uno u otro lado de la membrana basal glomerular. El grosor de los cortes de criostato (5-7  $\mu$ ) que en principio puede parecer una desventaja respecto a los cortes de MO (1-2  $\mu$ ), puede resultar un punto a favor si el tejido es congelado sin artefactos y preservando la morfología ofreciéndonos a gran aumento mediante el uso del micrométrico una vista tridimensional de las asas capilares y los depósitos que asientan a cada lado de la membrana basal revelando claramente su topografía.

Conviene recordar que en el estudio de IFD la representatividad glomerular sobre el porta será mucho menor y se identificarán muchos menos glomérulos por plano de corte ya que pasaremos de una visión tridimensional del tejido, en el microscopio estereoscópico, a un plano bidimensional en el estudio de IFD.

Una vez más los datos clínicos y la orientación diagnóstica son cruciales pues ante situaciones con escaso tejido cortical disponible, se dará prioridad al estudio de IFD asegurando una adecuada dotación glomerular si la clínica orienta a nefropatías por depósito de inmunocomplejos o que cursen con hipocomplementemia, o por el contrario a MO, por ejemplo en casos con clínica de GN rápidamente progresiva y sospecha de vasculitis paucimune asociada a ANCA, en los que la identificación de lesiones activas en la óptica es prioritaria. No significa esto que debemos descuidar la IFD ante una probable vasculitis asociada a ANCA y asumir que la IFD será negativa ya que hasta un 5% de casos ANCA+ también muestran anticuerpos anti-MBG.

## 1. MÉTODOS DE CONGELACIÓN

Es importante congelar el tejido provocando el menor artefacto posible ya que además de limitarnos en el estudio de IFD, en caso de tener que disponer del remanente del cilindro congelado para MO por escasa o nula representatividad glomerular del tejido destinado originalmente a ese fin, nos limitaría muchísimo dada la alteración morfológica del tejido y la única solución a lo no representativo pasaría a ser no valorable.

El artefacto de congelación es directamente proporcional al tiempo que tarda en congelarse, produciéndose un marcado artefacto mediante métodos de congelación lenta y siendo mínimo o prácticamente inexistente con métodos que congelan súbitamente el tejido. Este artefacto se produce por los cristales de que se forman al congelarse el tejido que al expandirse lo fracturan. Los métodos rápidos de congelación no dan tiempo a que el agua cristalice y por lo tanto no dañan el tejido.

Para manipular la muestra al extraerla de la placa de Petri y trasladarla al correspondiente soporte de criostato se recomienda hacer lo mismo que al depositarla. Se detallan a continuación los métodos más empleados hoy en día para congelar el tejido renal.

### a) Congelación en el criostato.

Es el método más simple de congelación, el segmento seccionado para IFD se deposita sobre un soporte ('seta') de criostato con gel de OCT. No obstante dada la congelación lenta del tejido hasta llegar a la temperatura del criostato (-20°C), es la que más artefactos produce.

### b) Congelación sobre criomolde en la superficie de nitrógeno líquido.

En teoría debería ser la ideal, pues la congelación es súbita dada la temperatura del nitrógeno líquido (-190°C), pero por desgracia eso sólo ocurre en el mejor de los casos, ya que también produce muchos artefactos. Se introduce en el fondo de un criomolde el segmento para IFD rellenando el molde con OCT. Luego se pone en contacto la superficie inferior del criomolde con el nitrógeno líquido, esperando unos segundos.

Es una técnica que puede producir artefactos fácilmente y que incluso en manos expertas proporcionará resultados impredecibles. Esta particularidad de difícil control se debe a que la superficie del nitrógeno líquido en contacto con el aire adopta un estado de 'ebullición'. El contacto de la superficie inferior del criomolde con el líquido incrementará esa efervescencia formando gotas de nitrógeno que saltan y fácilmente podrán ir a parar a la superficie del criomolde. El contacto del nitrógeno líquido con el gel de OCT producirá grietas y burbujas que podrían artefactar el tejido. Además el denso gas blanco que se forma en su superficie no se encuentra a tan baja temperatura como el líquido lo que puede provocar una congelación más lenta con el consiguiente artefacto del tejido.

### c) Congelación con isopentano/metilbutano.

Representa la solución al problema anterior y es una de las técnicas que mejor preserva la estructura del tejido sin producir artefacto de congelación, pero por otro lado es una técnica compleja que ofrece su mejor versión a manos de personal especializado ante una repetición continua normalmente a cargo de una o dos personas. Se llena un vaso de precipitado con isopentano/metilbutano que a su vez se sumerge en otro recipiente de mayor diámetro con nitrógeno líquido para enfriarlo. Cuando el isopentano empieza a congelarse (-150°C) por los laterales y fondo del recipiente es el momento idóneo para sumergir la muestra. La dificultad de la técnica radica en que la muestra debe ser lo primero que entre en contacto con el isopentano a punto de congelación para evitar artefactos y para ello debemos voltear el soporte de criostato (en el que previamente habremos realizado una base con OCT congelado) sin titubear y sumergirla en el centro del recipiente. Entre los puntos en contra, además de la dificultad que entraña la técnica para el personal no especializado, están la facilidad con la que el bloque de OCT puede agrietarse ante los cambios bruscos de temperatura (isopentano/metilbutano → temperatura ambiente → criostato). Las grietas en el bloque pueden artefactar el tejido y dificultar su corte en el criostato provocando el plegamiento de la muestra sobre sí misma.

Otra desventaja, que comparte con la congelación en el criostato, es que a pesar de realizar una base de OCT previamente en el soporte, el nivelado de la muestra en el mismo es complicada por lo que fácilmente el cilindro puede no aparecer completamente representado en los cortes.

**d) Congelación mediante aparatos de refrigeración de isopentano tipo Histobath™**

La ventaja del Histobath™ es que mantiene constantemente refrigerado el isopentano, no obstante en algunos aparatos la temperatura que alcanza no es lo suficientemente baja para evitar artefactos de congelación. Aunque ha dejado de comercializarse, actualmente existen otros productos con un funcionamiento similar.

**e) Congelación con dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).**

Es una técnica que se ha utilizado mucho en el pasado para hacer cortes de congelación cuando surgieron las biopsias intraoperatorias. Se consigue mediante la circulación del gas a gran velocidad para expulsarlo sobre el tejido y congelarlo. También se puede utilizar la forma sólida del CO<sub>2</sub>, la nieve carbónica (hielo seco), pero no ofrece buenos resultados.

**f) Congelación mediante aparatos de congelación ultrarrápida tipo Presto-Chill™.**

Se congela el tejido a -40°C de manera rápida (<1 min) extrayendo a presión el vapor de agua para evitar artefactos.

Las principales ventajas de este método son una congelación rápida sin producir artefactos en el tejido y de una manera relativamente simple pudiendo ser realizada por personal no especializado y que nivela toda la muestra en el mismo plano de corte.

**2. ANTICUERPOS UTILIZADOS EN IFD**

La batería básica de anticuerpos para un estudio de IFD incluye las inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM, los derivados del complemento C3 y C1q y las cadenas ligeras kappa y lambda. De manera adicional en muchos laboratorios también se utilizan C5b9 (complejo de ataque a membrana o MAC), C4, C4d, albúmina o fibrinógeno.

**Valoración de la intensidad**

A pesar de que se usan varias escalas de gradación la más ampliamente utilizada es de 0-4 (-, +, ++, +++). Es muy importante indicar el grado de positividad de cada anticuerpo ya que en muchos casos más de uno será positivo y entre los criterios diagnósticos de muchas nefropatías se encuentra la dominancia de uno sobre el resto (nefropatía IgA, glomerulopatía C3, mesangial IgM...).

Es muy importante tener en cuenta que la intensidad de la positividad en la inmunofluorescencia se desvaneciendo poco a poco con la exposición a la luz, tanto luz ambiente como la propia ultravioleta mientras vamos observando la muestra. Con objeto de no 'desgastar' la positividad en el estudio de IFD se realizarán varios cortes en un mismo porta, con lo que además si se realiza un primer corte en cada uno de los portas para luego en una segunda ronda añadir un segundo o incluso tercer corte, al tratarse de cortes más gruesos que en la MO, podremos tener diferentes niveles en un mismo porta con diferentes glomerulos, consiguiendo así que la muestra sea más representativa.

Por esta misma razón es imprescindible realizar fotografías representativas en todos los anticuerpos que resulten positivos. Al tratarse de una tinción temporal que luego perderá la positividad, será la única prueba de lo que figurará en el informe. Además en muchos casos a menudo que es necesario volver a ver los patrones de IFD observados a la hora de integrar datos clínicos, de MO, IFD y ME e incluso para la valoración retrospectiva de casos.

**3. PATRONES DE POSITIVIDAD EN IFD**

La inmunofluorescencia, muestra unos patrones inmunomorfológicos bastante característicos, siendo los más frecuentes granular y lineal.

**a) Patrón granular.**

Como su nombre indica, la positividad es moteada formando gránulos que pueden ser desde muy finos a más gruesos en el que los gránulos confluyen adoptando un aspecto 'tosco'.

Según su topografía, la positividad granular nos conferirá a su vez diferentes patrones específicos.

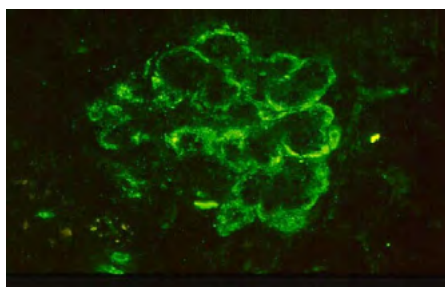


**b) Patrón granular periférico.**

Los granos de positividad se distribuyen dibujando el contorno de las paredes capilares. Son homogéneos, afectando a todos los glomérulos y de distribución global en la nefropatía membranosa y típicamente localizados en la región subepitelial de la pared capilar (entre los pedicelos y la membrana basal). En la nefropatía lúpica puede observarse también un patrón granular periférico, pero con granos más heterogéneos, confluentes y toscos en región subendotelial (que se corresponden con las asas de alambre visualizadas en la microscopía óptica), pudiendo existir también granos más finos en región subendotelial. Este mismo patrón puede observarse también en muchas glomerulopatías proliferativas monoclonales.

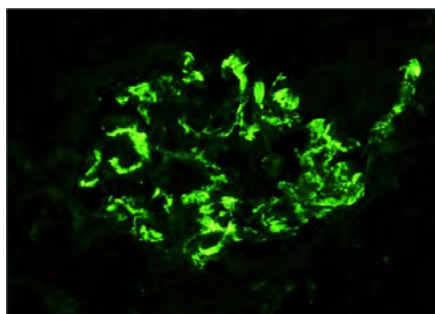
**c) Patrón granular lobular.**

Es típica del patrón membranoproliferativo de afectación. Los granos de positividad se distribuyen en la periferia de los lóbulos confiriéndole al glomérulo un aspecto de trébol.



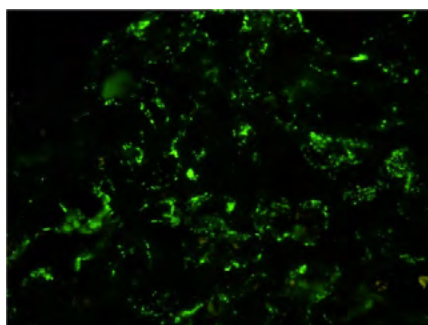
**d) Patrón granular mesangial.**

La positividad se distribuye formando granos heterogéneos confluyentes y toscos en mesangio. Puede verse típicamente en la nefropatía IgA, pero también en el lupus, glomerulopatías C3 y mesangial IgM.



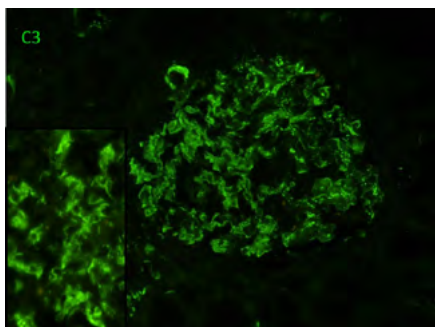
**e) Patrón granular en cielo estrellado.**

Los gránulos positivos, de medio y pequeño tamaño, se encuentran dispersos y separados entre sí por todo el glomérulo sin confluir ni resaltar ninguna de las estructuras del glomérulo. Es típico de la glomerulonefritis postinfecciosa.



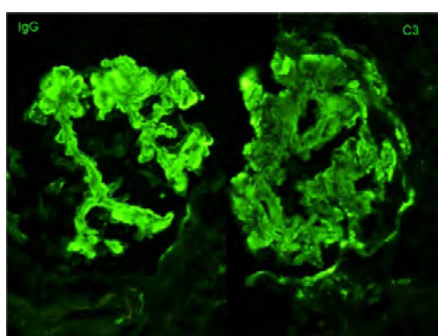
**f) Patrón granular en guirnalda.**

También se observa en la GN postinfecciosa, pero a diferencia del anterior, los granos confluyen siguiendo los capilares glomerulares.



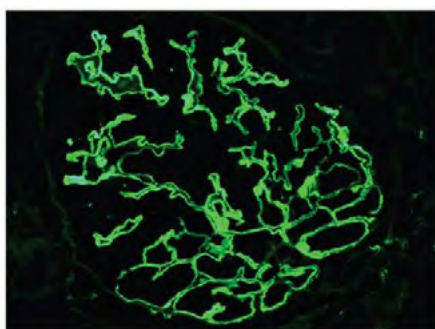
**g) Patrón 'borroso' (smudgy)**

Típico de la GN Fibrilar, la positividad es tosca y gruesa en mesangio y región subendotelial con un aspecto 'pintado' a pincel.



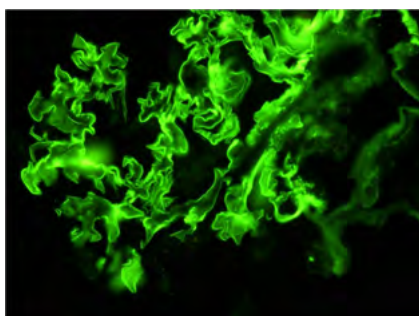
**h) Patrón pseudolineal**

En ocasiones los depósitos son de grano fino, que al confluir dan un aspecto de línea irregular. Este efecto puede observarse en ocasiones en estadios iniciales de la nefropatía membranosa.



**i) Patrón lineal**

Se identifica una positividad lineal fina siguiendo los capilares glomerulares y de manera global (GN por anticuerpos anti-MBG, diabetes).

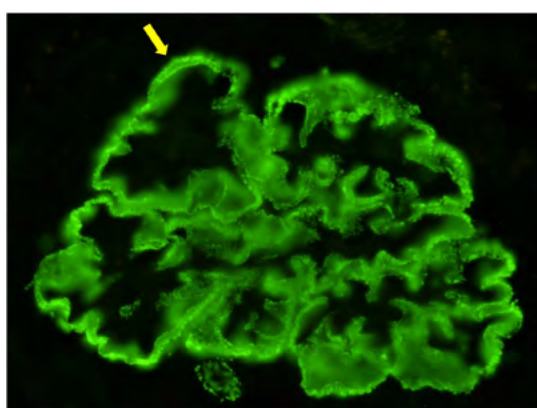




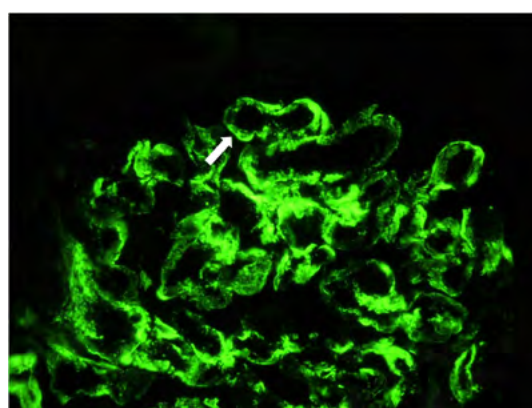
#### 4. TOPOGRAFÍA DE LOS DEPÓSITOS EN IFD

La localización de los depósitos va a ser otro punto clave para diferenciar unas nefropatías de otras. En los glomérulos los depósitos podrán estar en el mesangio y/o capilares periféricos. Cuando se encuentran en capilares periféricos hemos de especificar si éstos son subepiteliales o subendoteliales (también pueden observarse ambos). Esta diferenciación puede resultar todo un reto en casos con artefacto de congelación. La pista para identificarlos es que en ambos casos los depósitos muestran una cara irregular (por donde se va depositando) y una cara más regular y lisa (donde se está asentando) hacia la membrana basal glomerular. Si la irregularidad en el contorno de los depósitos está hacia afuera, es decir hacia el espacio de Bowman y la parte lisa hacia dentro el depósito será subepitelial. Si por el contrario es la cara lisa de los depósitos la que se encuentra hacia afuera y la irregularidad hacia adentro el depósito será subendotelial.

Pueden encontrarse depósitos también en membranas basales tubulares (granular o lineal grueso), intersticio o paredes vasculares (granulares).



*Depósitos subepiteliales (GN Membranosa)*



*Depósitos subendoteliales (GN Lúpica)*

#### 5. INMUNOHISTOQUÍMICA

La gran ventaja de las técnicas de IHQ es que se realizan con el mismo tejido parafinado para MO y las tinciones son permanentes. A pesar de estas ventajas, la IHQ en muchos casos muestra una tinción de fondo inespecífica que puede dificultar la identificación de la positividad. Si tras llegar al diagnóstico se dispone de cortes sin teñir, es recomendable la inmersión de los porta en parafina y posterior secado para evitar que pierdan su antigenicidad ante si desean teñirse pasadas unas semanas.

La IHQ por lo general no se realiza de manera rutinaria en la biopsia renal excepto en la patología del trasplante renal, en la que a menudo se solicitan de entrada tinciones específicas (C4d, CMV, SV40...). A pesar de poder realizarse a mano, hoy en día en la mayoría de los servicios de Anatomía Patológica que reciben biopsias renales la IHQ se realiza mediante teñidores automáticos.

#### 6. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Algunas enfermedades son de diagnóstico exclusivo ultraestructural y hasta en un 20% de los casos los hallazgos identificados mediante la microscopía electrónica son claves en el diagnóstico. Por lo tanto siempre que la representatividad de la muestra lo permita, debemos seleccionar material para ME depositándolo cuidadosamente en un recipiente con glutaraldehído al 2% o solución de Karnowski.

Este estudio se documenta de forma más amplia en el capítulo siguiente.



# Estudio Ultraestructural en la biopsia renal

Miguel Ángel Martínez González<sup>1</sup>, Josep Lloreta Trull<sup>2</sup> y los miembros del Club de Patología Ultraestructural de la SEAP

1 Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

2 Hospital del Mar, Barcelona

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

Las aplicaciones de la microscopía electrónica (ME) en Anatomía Patológica están limitadas por el coste del aparataje básico, la complicación de su manejo y el consumo de tiempo tanto de técnicos como de especialistas en el diagnóstico. Por otra parte, las nuevas técnicas de inmunohistoquímica y de biología molecular han desviado el centro de atención diagnóstico y las indicaciones de la ME no están bien definidas. En la práctica diaria, en las unidades de Microscopía Electrónica Diagnóstica activas que, aunque no reglamentadamente actúan como Centros de Referencia se evidencia que del 50 al 75% de las muestras corresponden a patología renal glomerular.

### Situación actual

En el momento actual hay muy pocos centros hospitalarios que dispongan de microscopio electrónico y del aparataje necesario para la elaboración de secciones. En estas circunstancias no es infrecuente que se recurra a laboratorios universitarios en los que profesionales sin conocimientos específicos de anatomía patológica toman imágenes que son interpretadas por segundas personas que no tienen experiencia en la patología ultraestructural. Por otra parte, existen centros en los que el aparataje está disponible pero solo se utiliza esporádicamente por profesionales poco experimentados. Sin embargo, en el país hay unidades de ME en activo que cuentan con anatomopatólogos con experiencia suficiente y personal técnico cualificado.

### Tipos de muestras

La técnica ideal se basa en la fijación inmediata de muestras de 0,1 cm de diámetro en una solución tamponada de glutaraldehído al 2,5% o mezclas de glutaraldehído y paraformaldehído. Las muestras deben tallarse en una superficie dura, con una hoja de bisturí nueva y evitando la compresión y la desecación. Las muestras fijadas en la solución convencional de formaldehído tamponado al 4% dan resultados aceptables. En situaciones específicas puede estudiarse material previamente incluido en parafina; en estos casos el resultado depende de la fijación previa, de la temperatura de la parafina y del proceso de recuperación de la muestra para ultraestructura que, en general, es aconsejable que realice en el propio laboratorio de ME.

### Tiempo de respuesta.

En la mayoría de las unidades de ME se dispone de aparatos de inclusión automáticos y se agrupan de 20-30 muestras para su procesamiento que se realiza una vez a la semana. La polimerización de la resina de inclusión se realiza en estufa y la técnica convencional es de 48 horas. Sin embargo, existen procedi-

mientos para la inclusión de 7 horas que dan resultados satisfactorios. La realización de cortes semifinos, selección de las áreas a estudiar y realización de cortes finos suele demorar el diagnóstico 48 horas más. En condiciones ideales, podría realizarse un estudio no especialmente urgente en 15 días. El retraso en la emisión de informes se debe en la mayor parte de los casos a que, con contadas excepciones, los técnicos y el personal facultativo solo se dedican a tiempo parcial a la ME y con frecuencia se considera una actividad "marginal".

### Costes

Se calcula que el coste total de un estudio de ME en un centro con 500 muestras anuales, incluyendo gastos de personal, mantenimiento y amortización de aparataje es de 150-200€ por muestra. Pero debe tenerse en cuenta que el coste marginal (material fungible: rejillas, colorantes, cuchillas desechables, etc...) es 20-30€.

## II. INDICACIONES DE LA ME EN PATOLOGÍA RENAL

### Cortes semifinos

Los cortes semifinos son secciones de alta calidad de una micra de espesor que en la tinción convencional de azul de toluidina aportan información relevante en lesiones glomerulares. Si se considera preciso se puede extraer la resina de inclusión con soluciones concentradas de hidróxido potásico para realizar tinciones convencionales de hematoxilina-eosina PAS o Masson.

### Estudio ultraestructural

#### A. Patología glomerular:

##### 1) Biopsia de riñones nativos:

- **Enfermedades con depósitos estructurados:** la ME es actualmente un método básico en el diagnóstico de:
  - Glomerulopatía fibrilares
  - Glomerulopatía por inmunotactiodes
  - Confirmación de las lesiones en el síndrome uña-rótula
  - Glomerulopatía colágeno-fibrótica
  - Enfermedad de Fabry y otras dislipidosis
  - Enfermedades por depósito de cadenas ligeras o pesadas
  - Enfermedad con depósitos densos
- **Enfermedades del colágeno IV:** la ME tiene valor diagnóstico en la enfermedad de Alport y en la hematuria benigna familiar. El tipo de lesión en este grupo de enfermedades probablemente tenga valor pronóstico
- **Síndrome nefrótico de origen incierto:** La ME es útil en la valoración del grado de lesión podocitaria en la enfermedad de cambios mínimos y en el diagnóstico de lesiones sutiles de glomerulopatía membranosa, amiloidosis y nefropatía fibrilar
- **Otras enfermedades glomerulares:** Incluso en enfermedades definidas por el estudio de inmunofluorescencia (glomerulopatía por depósito de IgA, glomerulopatía asociada depósito de C3) la ME aporta datos relevantes sobre la distorsión arquitectural. En la diabetes la ME es de gran utilidad en la detección de lesiones sobreañadidas.

- ##### 2) Biopsia de riñones trasplantados:
- La ME ha demostrado repetidamente ser el método ideal, al menos hasta el momento actual, para la detección de lesiones aloinmunes iniciales en los capilares tanto glomerulares como intertubulares. En cuanto a glomerulonefritis de recidiva o de novo, la ME debe considerarse en el mismo sentido que en el estudio de lesiones glomerulares en riñones nativos.

**B. Patología no glomerular:** la ME es útil en la detección de lesiones del túbulo renal. En el síndrome nefrótico refractario infantil es importante el estudio de túbulos proximales como primera aproximación al diagnóstico de mitocondriopatías.

### III. PERSPECTIVAS DE FUTURO

En los próximos decenios no es probable que se pueda prescindir de la microscopía electrónica como método diagnóstico. Por otra parte, los nuevos modelos de barrido con imágenes similares a las de transmisión y con resolución suficiente para el estudio de anatomopatológico probablemente faciliten el procesamiento de las muestras.

Desde el Club de Patología Ultraestructural se trata de:

1. Fomentar el entrenamiento de las nuevas generaciones de técnicos y facultativos
2. Crear una red de centros dotados de unidad de ME que sirva de referencia a otros hospitales

### IV. RECOMENDACIONES:

1. Los centros sin infraestructura para el estudio ultraestructural deberían apoyarse en una Unidad de ME de referencia con la que deberían tener un contacto fluido.
2. Siempre que sea posible debería reservarse material directamente fijado en soluciones de glutaraldehído para estudio ultraestructural en la mayoría de las muestras de biopsias de riñones nativos particularmente en las que se sospeche patología glomerular y en los riñones trasplantados de más de un año de evolución.
3. Si no se ha tenido la precaución de reservar material para ME, en casos seleccionados puede intentarse recuperar material incluido en parafina para el estudio de ME.
4. Debe tenerse en cuenta que la ME tiene una vertiente docente e investigadora lo sugiere la importancia de acumular muestras de casos infrecuentes o especialmente llamativos.



# Interés de los estudios moleculares en patología renal

Esther Roselló-Sastre<sup>1</sup>, Jerónimo Forteza<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital General Universitario de Castellón

<sup>2</sup> Instituto Valenciano de Patología. Universidad Católica de Valencia

La enfermedad renal crónica (ERC) tiene unas implicaciones económicas de alto coste en el sistema sanitario, con tratamientos muy caros, como trasplante o diálisis. Para mejorar esta situación es necesario cambiar el rumbo y evolucionar hacia una Medicina Personalizada o más exactamente a una Medicina de Precisión. Esto implica cambiar el paradigma del diagnóstico y evolucionar, de un diagnóstico clínico que se basaba fundamentalmente en la morfología (microscopía óptica y electrónica) e inmunofluorescencia, a un diagnóstico en el que se incorporen las nuevas técnicas moleculares.

Desde un punto de vista conceptual se evoluciona, desde la morfología al diagnóstico de genética molecular, convirtiéndose en un diagnóstico interdisciplinario, que permite una mayor precisión y la posibilidad de aplicar la mejor terapia a cada paciente.

Hasta ahora, el estudio molecular en Nefropatología estaba centrado en el diagnóstico de enfermedades renales hereditarias. Las alteraciones genéticas de tipo Mendeliano conocidas que pueden aparecer en la patología renal son numerosas, pero afectan a un bajo número de pacientes con ERC, exceptuando la Enfermedad Poliúística Autosómica Dominante.

Tenemos:

- el grupo de las Enfermedades poliúísticas (que pueden estar asociadas a otros síndromes)
- el grupo de los Síndromes nefróticos cortico-resistentes de la infancia temprana, que cursan con alteraciones en los genes de síntesis de proteínas podocitarias o estructurales glomerulares (que pueden cursar como síndrome único o asociarse a otros síndromes más complejos)
- el grupo de las Nefritis hereditarias, que cursan con membrana basal fina

Podemos ver en la tabla el tipo de herencia predominante y los genes implicados, así como la frecuencia estimada de la enfermedad.

ENFERMEDAD	TIPO DE HERENCIA	MUTACIÓN	FRECUENCIA
Enfermedad poliúística autosómica dominante (EPAD)	Mendeliana AD	PKD1 (gen de la policistina 1) (crom 16p) PKD2 (gen de la policistina 2) (crom 4p) Otros poco conocidos	1:1.000

ENFERMEDAD	TIPO DE HERENCIA	MUTACIÓN	FRECUENCIA
Enfermedad poliquística autosómica recesiva (EPAR)	Mendeliana AR	PKHD1 (crom 6p)	1:20.000
Nefronoptosis	Mendeliana AR	NPHP1-6 (genes de cilios y centrosoma)	1:50.000
Enfermedad quística medular	Mendeliana AD	MCKD1 (crom 1q21) MCKD2 (gen UMOD en crom 16p12)	
Enfermedad renal Glomeruloquística primaria (ERGQ)	Mendeliana (múltiples síndromes con una misma morfología renal)	Múltiples genes ERAD UMOD MODY5 Otros	
Síndrome nefrótico congénito	Mendeliana AR	Tipo finlandés: NPHS1 (crom 19q13) NPHS2 (crom 1q25) Tipo francés: WT1 (crom 11p13) Otros	1: 50.000
Esclerosis Mesangial Difusa (algunos casos)	Mendeliana AR o AD	WT1 (crom 11p13) LAMB2 (crom 3p21) PLCE1 (crom 10q23) Otros	
Síndrome de Alport / Nefritis hereditaria	Ligada al sexo Mendeliana AD o AR	COL4A5 (crom X) COL4A3, COL4A4	1: 17.000

Para todos estos pacientes, se recomienda un estudio genético convencional en línea germinal, ya que el diagnóstico genético tiene valor pronóstico (evolución más o menos rápida a la insuficiencia renal terminal) y condiciona la terapia a seguir (corticorresistencia en los síndromes nefróticos congénitos) y el consejo genético para los futuros padres.

El estudio molecular ha pasado de una secuenciación génica individualizada (método Sanger) a la posibilidad de los estudios de next generation sequencing (NGS) que permiten el estudio de varios genes glomerulares de forma simultánea. Esto hace necesario contar en los servicios con análisis genético basado en secuenciación masiva que permita incrementar la eficacia diagnóstica y mejorar el manejo clínico de las enfermedades genéticas.

Este tipo de enfermedades de herencia Mendeliana son una mínima parte de las nefropatías y la mayor parte no muestra mutaciones en genes complejos, sino polimorfismos génicos de tipo polimorfismo de *nucleótido único* (SNP) y son los más relacionados con la ERC.

Actualmente hay mucha información recogida basada en técnicas moleculares que estudian secuencias múltiples de ADN de forma simultánea (GWAS) en grupos de pacientes y contrastando las mismas secuencias con grupos de controles sanos. Un ejemplo de ello es la Nefropatía IgA que afecta principalmente a genes de síntesis de IgA y a genes relacionados con HLA y el sistema del complemento, lo que sitúa la Nefropatía IgA dentro de las enfermedades autoinmunes. Por otra parte se ha observado que la Glomerulopatía Membranosa primaria está asociada a una variación alélica en el gen del Receptor de la Fosfolipasa A2 (PLA2R1 SNP rs35771982). La *Glomeruloesclerosis focal y segmentaria primaria* (GSSF), está relacionada con las variantes en el gen APOL1-G1 y G2 (gen que codifica la Apolipoproteína L1) en los pacientes de raza negra, pero no



en los de raza blanca o asiática. También contribuyen en la GSSF primaria del adulto variaciones alélicas en otros genes ya conocidos para las GSSF de la infancia, como COL4A4 y LAMB, que sin embargo no siguen una herencia Mendeliana.

El encontrar dianas terapéuticas en los pacientes con ERC ha sido uno de los objetivos más importantes de los estudios moleculares y así se ha estudiado la existencia en pacientes hipertensos de polimorfismos en el gen de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) y se ha encontrado que existen polimorfismos en el gen de la Interleukina 6 (IL6-174G), que condicionan unas necesidades mayores de suplementos de eritropoyetina en pacientes con ERC.

Ha sido un cambio profundo en los estudios genómicos el poder disponer de la NGS, así como el desarrollo de la Genómica Computacional y la implantación de los Biobancos, como el Biobanco Nacional de Patología Renal, en conexión con la red Europea de Biobancos. Este nuevo escenario exige la incorporación de la Genómica a la Nefropatología y correlacionarla con el conocimiento clínico patológico que actualmente disponemos. Esto hace que haya que aumentar la interdisciplinaridad que tradicionalmente siempre ha existido en la Nefropatología. El diagnóstico y el conocimiento en Nefropatología, como en otros campos de la medicina tiene que ser clínico, morfológico, inmunológico y molecular, abriéndose a la adquisición y utilización de nuevos conocimientos. Es un apasionante desafío.

### **Bibliografía**

1. Mallett A, Corney C, McCarthy H, Alexander S, Healy H: Genomics in the renal clinic - translating nephrogenetics for clinical practice. *Genomics*. 2015 Jun 24;9:13. doi: 10.1186/s40246-015-0035-1.
2. Kiryluk K, Novak J: The genetics and immunobiology of IgA nephropathy. *J Clin Invest*. 2014 Jun 2; 124(6): 2325–2332.
3. Saeed M, Beggs ML, Walker PD, Larsen CP: PLA2R-associated membranous glomerulopathy is modulated by common variants in PLA2R1 and HLA-DQA1 genes. *Genes Immun*. 2014 Dec;15(8):556-61. doi: 10.1038/gene.2014.50.
4. Witasz et al: How can genetics and epigenetics help the nephrologist improve the diagnosis and treatment of chronic kidney disease patients?. *Nephrol Dial Transplant*. 2014 May;29(5):972-80. doi: 10.1093/ndt/gfu021.



# La biopsia en el trasplante renal

Dolores López Álvarez<sup>1</sup>, Rosa Ortega Salas<sup>2</sup>

1 Hospital Universitari Germans Trias i Pujol Badalona, Barcelona

2 Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

La biopsia renal se mantiene como la prueba diagnóstica “gold standard” en la disfunción del injerto. No obstante, los datos inmunológicos y las pruebas de imagen son actualmente de gran valor para detectar el mecanismo responsable de la lesión.

### Clasificación de Banff

Como resultado de la discusión entre los diferentes profesionales relacionados con el trasplante renal, surge la Clasificación, esencialmente morfológica, de Banff, que es aceptada mundialmente en patología; fue formulada a principios de los noventa, siendo revisada y modificada periódicamente (Tabla 1).

### Tipos de biopsia

En el riñón del trasplante se realizan los siguientes tipos de biopsia:

- La biopsia renal del donante (preimplante), que tiene como finalidad valorar el grado de patología en el donante. En conjunción con criterios clínicos, biológicos, de imagen (ecografía) y macroscópicos, la biopsia preimplante sirve, en primer lugar, para ayudar a definir la viabilidad del injerto renal (en particular con el tipo de donantes de criterios expandidos y muy expandidos que se manejan en el momento actual) y también como referencia para interpretar los hallazgos postrasplante en biopsias del receptor.
- La biopsia renal del receptor (postrasplante), que puede realizarse por indicación clínica o por protocolo.

## II. BIOPSIA POST-TRASPLANTE POR INDICACION CLINICA

### Idoneidad de la muestra

El tejido renal adecuado consiste en al menos 2 cilindros corticales (la médula es menos sensible al rechazo que la corteza renal) que permitan el estudio de Microscopía Óptica, Inmunofluorescencia y Microscopía Electrónica (1 a 1,5 cm de longitud). A pesar de las recomendaciones para estandarizar una muestra suficientemente representativa que exigen al menos 7 glomérulos no esclerosados y 2 arterias, cada lesión va a ser determinante sobre este criterio; así, la arteritis implica rechazo agudo, aún en muestras sin glomérulos.

Tabla 1. Categorías diagnósticas en biopsia de injerto	
1	<b>Normal</b>
2	<b>Rechazo mediado por anticuerpos:</b> - Agudo - Crónico activo
3	<b>Cambios borderline:</b> sospecha de rechazo mediado por linfocitos T
4	<b>Rechazo mediado por linfocitos T:</b> - Agudo. Tipos: IA: i2-i3 y t2 IB: i2-i3 y t3 IIA: arteritis intimal leve-moderada, v1 IIB: arteritis intimal grave, v2 III: arteritis transmural, necrosis fibrinoide, v3 - Crónico activo
5	<b>Fibrosis intersticial y atrofia tubular sin evidencia de etiología específica:</b> - Leve - Moderada - Severa

**1. RECHAZO MEDIADO POR ANTICUERPOS (RECHAZO HUMORAL):** A partir de la reunión de 2003, se incorporó a la clasificación de Banff el rechazo mediado por anticuerpos, agudo y crónico.

### 1.1. Rechazo Agudo

Se puede definir por:

**- Lesiones histológicas:**

- Glomerulitis (g), también puede estar presente en el rechazo mediado por linfocitos T y se caracteriza por celularidad inflamatoria en capilares glomerulares.
- Capilaritis periglomerular (ptc) que se muestran dilatados conteniendo células inflamatorias.
- Inflamación de microvasculatura uniría a las dos anteriores pero aún no ha sido incorporada definitivamente a la clasificación.
- Trombosis de los capilares glomerulares
- Lesión tubular aguda con escasa tubulitis
- Edema y hemorragia intersticial
- Lesiones arteriales: inflamación transmural y/o necrosis fibrinoide de arterias de mediano calibre; también puede estar presente en el rechazo mediado por linfocitos T.

- Presencia de C4d en los capilares peritubulares y glomerulares:** marcador de activación del complemento por la vía clásica en este rechazo aunque se ha comprobado que no es sensible o de igual extensión en todos los casos (Tabla 2); se puede demostrar mediante un anticuerpo monoclonal por inmunofluorescencia indirecta (IF) sobre tejido no fijado o bien, sobre tejido incluido en parafina, mediante técnica de inmunoperoxidasa con anticuerpo policlonal (IHQ). Ambas pueden ser superponibles aunque podemos encontrar diferentes combinaciones aplicables según se especifica en Tabla 3.

Tabla 2. Depósitos de C4d en capilares peritubulares y glomerulares según % de área cortical	
<b>C4d0</b>	Negativo, 0%
<b>C4d1</b>	Mínima tinción, 1-10%
<b>C4d2</b>	Tinción positiva focal, 10-50%
<b>C4d3</b>	Tinción positiva difusa, > 50%:

Tabla 3. Significado del C4d según la técnica	
<b>C4d0</b>	IF Negativa, IHQ Negativa
<b>C4d1</b>	IF Negativa, IHQ Desconocida
<b>C4d2</b>	IF Focal, IHQ Positiva
<b>C4d3</b>	IF Positiva, IHQ Positiva:

- Presencia de anticuerpos donante-específicos (ADES), reconocidos en dos fenotipos:
  - 1: en pacientes presensibilizados, en post-trasplante inmediato y con C4d habitualmente difuso
  - 2: *de novo*, anti-HLA, sobre todo de clase II, más tardío.

### 1.2. Rechazo Crónico Activo:

Indica cambios morfológicos de remodelación debido a lesión endotelial por la acción de los anticuerpos. Los criterios diagnósticos en este caso serían:

#### - Lesiones histológicas:

- Glomerulopatía del trasplante: duplicación de la membrana basal del capilar glomerular que se suele acompañar de aumento de la matriz mesangial y presencia de células inflamatorias en la luz de estos capilares.
- Multilaminación de la membrana basal de los capilares peritubulares, usualmente observada mediante microscopía electrónica
- Arteriopatía del trasplante (cv): engrosamiento de íntima arterial por proliferación o neointima con células inflamatorias en la pared; puede ser debida a rechazo humoral o celular.
- C4d en capilares peritubulares y glomerulares aunque diferentes trabajos han demostrado que hasta en el 40% de los casos han resultado negativos cuyos estudios moleculares mostraron alta expresión de los genes implicados en la activación endotelial.
- Presencia de ADES.

## 2. RECHAZO MEDIADO POR CELULAS T:

### 2.1 Rechazo Agudo:

Las células T reaccionan frente a los antígenos de histocompatibilidad del donante afectando a túbulos, intersticio, arterias y venas, provocando grados variables de inflamación; se reconoce por la infiltración de linfocitos activados (más grandes, con nucléolo evidente y cromatina granular y más abierta, en contraste a los pequeños, no activados, de cromatina densa y oscura con las tinciones de rutina). A pesar de que como se ha comentado el principal componente celular inflamatorio es linfocitario, CD8 y CD4, también pueden identificarse macrófagos, células B, células NK, eosinófilos, mastocitos y celularidad plasmática. En túbulos, esta infiltración de linfocitos en el epitelio con la consecuente lesión de sus células, se conoce como tubulitis

y ha demostrado ser un buen indicador de la severidad del rechazo; por ello, es el rasgo mejor caracterizado en el rechazo túbulo-intersticial (aunque debe acompañarse de inflamación intersticial). Si hay tubulitis leve (t1: 4 o menos células inflamatorias mononucleares por sección transversal del túbulo - ó 10 células tubulares) se habla de que hay cambios "sospechosos" de rechazo ("borderline"); si hay tubulitis moderada (t2: 5-10 células mononucleares por sección transversal del túbulo - ó 10 células tubulares) habrá un rechazo grado IA de Banff; si hay tubulitis severa (t3: >10 células) será un rechazo grado IB: túbulo-intersticial severo. Si la infiltración de linfocitos al epitelio tubular produce ruptura de la basal del túbulo (destrucción tubular) se debe clasificar la tubulitis como severa (t3) (Tablas 4). La inflamación intersticial, cuantificada desde i1 a i3, se acompaña de grados también variables de edema, hemorragia o incluso necrosis, en los casos más severos (Tabla 5). Toda biopsia con componente inflamatorio túbulo-intersticial sin clara tubulitis, debe obligar a un diagnóstico diferencial con procesos inflamatorios, entre los que se destaca la infección viral por CMV, poliovirus tipo BK, adenovirus o virus de Epstein-Barr. En este rechazo agudo, también llamado "celular", la presencia de linfocitos penetrando el endotelio hacia la íntima arterial se denomina **endarteritis** y la lesión puede considerarse como rechazo con componente vascular. También es graduada de 0 hasta 3, dependiendo de su intensidad y extensión. La adhesión de leucocitos al endotelio arterial, sin atravesarlo, no indica endarteritis. Si la lesión endotelial acompañada de células inflamatorias mononucleadas, incluso con agregación de plaquetas y fibrina, no obstruye la luz del vaso o lo hace en menos del 25% habrá una endarteritis leve (v1) y el rechazo será clasificado como grado IIA de Banff. Si la lesión obstruye más del 25% de la luz arterial en al menos una arteria se clasifica como v2 y el rechazo será grado IIB. Y si hay lesiones arteriales severas: necrosis fibrinoide de la pared o inflamación transmural (v3), el rechazo se clasifica como grado III (Tabla 6). También se pueden encontrar lesiones inflamatorias en arteriolas o endarteriolitis; a pesar de que el esquema de Banff no las incluye como un criterio de rechazo, se debe registrar este hallazgo. En muchos de los casos en los que aparece endarteriolitis, hay también endarteritis, o bien, se comportan como un rechazo córtico-resistente. El hallazgo más frecuente en la respuesta inmunológica contra el injerto es la infiltración de linfocitos en la pared de venas y vénulas o venulitis, sin embargo, en el injerto renal, esta respuesta inmune no se asocia con disfunción ni ha demostrado tener impacto en la evolución del injerto, por lo que no se considera un criterio de rechazo (sí en otros órganos trasplantados como hígado y páncreas). Las vénulas son uno de los primeros sitios de marginación y migración de células inflamatorias (son un sitio de circulación lenta) y por eso la venulitis representa, probablemente, una respuesta inmune leve o sin importancia funcional.

En glomérulos, este infiltrado de células mononucleares se denomina glomerulitis (Tabla 7); estas células pueden estar intracapilares. Estrictamente, el término se ha aplicado solo a la infiltración por mononucleares y no por polimorfos. Esta lesión no es uno de los criterios que se toma en cuenta para clasificar el rechazo, pero hoy se sabe que es un importante reflejo de la agresión inmune. La glomerulitis severa sugiere componente humoral en el rechazo, al igual que el hallazgo de estas células en capilares peritubulares.

En el estudio de Inmunofluorescencia (IF) se pueden hallar algunos depósitos de inmunoglobulinas (Ig), fundamentalmente de Ig M y complemento (C3 – C5b-9); por definición, no hay depósito de C4d en capilares peritubulares aunque, recientemente se piensa que, hasta en el 30% de los casos, puede tratarse de formas mixtas de rechazo, con componente celular y humoral.

Tabla 4. Criterios cuantitativos para tubulitis ("t")*	
*Evaluar sólo en túbulos sin atrofia o con atrofia leve	
<b>t1</b>	Focos con 1-4 células por sección tubular (o por 10 células tubulares)
<b>t2</b>	Focos con 5-10 células por sección tubular (o por 10 células tubulares)
<b>t3</b>	Focos con >10 células por sección tubular (o por 10 células tubulares) o presencia de al menos 2 áreas de destrucción de la basal tubular con i2/ i3 y t2 en otros sitios de la biopsia

<b>Tabla 5. Criterios cuantitativos para inflamación intersticial de células mononucleadas ("i")</b>	
Indicar con un asterisco (*) la presencia de una notoria cantidad de eosinófilos, neutrófilos o células plasmáticas	
<b>i0</b>	No hay o es trivial (<10% del parénquima no fibrosado)
<b>i1</b>	En el 10 a 25% del parénquima
<b>i2</b>	En el 26 al 50% del parénquima
<b>i3</b>	En > del 50% del parénquima

<b>Tabla 6. Criterios cuantitativos para arteritis intimal ("v")</b>	
<b>v0</b>	No hay arteritis
<b>v1</b>	Arteritis intimal leve a moderada en al menos una arteria
<b>v2</b>	Arteritis intimal severa con disminución de su luz en al menos el 25%
<b>v3</b>	Arteritis transmural y/o necrosis fibrinoide de la media con infiltrado linfocítico

<b>Tabla 7. Criterios cuantitativos para la glomerulitis ("g")*</b>	
*Este criterio es importante pero no se utiliza para determinar el tipo/grado de rechazo agudo	
<b>g0</b>	No hay glomerulitis
<b>g1</b>	Glomerulitis en menos del 25% de glomérulos
<b>g2</b>	Segmental o global en 25 a 75% de glomérulos
<b>g3</b>	Principalmente global en >75% de glomérulos

## 2.2. Rechazo Crónico:

Histológicamente se define por la presencia de «arteriopatía crónica» del injerto. Esta lesión consiste en la presencia de fibrosis de la íntima arterial con infiltración por células mononucleares en las áreas de fibrosis y la formación de una neoíntima. Suele acompañarse de fibrosis intersticial y atrofia tubular en alguno de sus grados (Tabla 1), y puede haber lesiones de rechazo agudo mediado por linfocitos T túbulo-intersticiales (infiltrado inflamatorio con tubulitis). La valoración del infiltrado inflamatorio debe realizarse en las áreas de tejido sin fibrosis intersticial, y la valoración de la tubulitis en los túbulos no atróficos. La presencia de infiltrado inflamatorio en las áreas de fibrosis, así como de tubulitis en túbulos atróficos, supone una agresión inmunológica persistente sobre el injerto que contribuye a un peor pronóstico para el injerto que la presencia de fibrosis intersticial y atrofia tubular aisladas.

## 3. FIBROSIS INTERSTICIAL Y ATROFIA TUBULAR SIN EVIDENCIA DE ETIOLOGÍA ESPECÍFICA

A pesar de que la denominación previa como "nefropatía crónica/esclerosante del injerto" (NCT) es más adecuada para los cambios crónicos del injerto ocasionados por factores no inmunológicos, este término se venía usando con mucha frecuencia, dando la falsa sensación de ser un diagnóstico específico, por lo que ha sido eliminado de la clasificación histopatológica de Banff en la Conferencia de 2005; ahora se denomina:

*“fibrosis intersticial y atrofia tubular sin evidencia de etiología específica” (IF/AT)*. De cualquier forma, es muy probable que los factores inmunológicos y no inmunológicos se sumen para producir el daño crónico del órgano. IF/AT es el resultado de una agresión continuada y progresiva y se ha asociado a diferentes moléculas inflamatorias cuando se correlaciona con mal pronóstico; genes relacionados con la fibrosis tisular, como TGF- $\beta$ , también se han encontrado aumentados en las biopsias con IF/AT, indicando que hay un proceso dinámico hacia la cronicidad. Pero no hay que olvidar que en la evaluación de muestras de tejido renal por daño crónico del injerto es de gran importancia intentar determinar la causa de ese daño y no limitar el diagnóstico a lo inespecífico de NCT: en la mayoría de los casos, la pérdida del injerto se debe a causas identificables y no a formas idiopáticas de IF/AT.

Desde el punto de vista morfológico, presenta cambios esclerosantes y fibrosantes que, en muchos aspectos, son similares a los cambios crónicos renales de cualquier otra nefropatía. Hay glomeruloesclerosis global, la mayoría de tipo isquémico; fibrosis intersticial que se acompaña de variable infiltrado inflamatorio mononuclear; atrofia tubular; fibrosis intimal de arterias y arterioloesclerosis hialina que puede ser similar a la nefropatía hipertensiva. La severidad de estas lesiones, de acuerdo al esquema de gradación de Banff (Tabla 1), está principalmente basada en la extensión de la fibrosis intersticial, ya que es la que permite una semicuantificación más reproducible. Biopsias seriadas de protocolo en injertos estables han mostrado que estas lesiones aparecen de forma precoz, de manera que a los 6 meses del trasplante pueden estar presentes en el 30-40% de los casos, y a partir del año se observan en más de dos terceras partes de los injertos.

#### 4. NEFROTOXICIDAD POR INHIBIDORES DE CALCINEURINA

##### 4.1. Nefritis Aguda:

Las lesiones histopatológicas producidas por inhibidores calcineurínicos (IC) son ampliamente descritas en la literatura, no existiendo ningún criterio histopatológico específico que indique nefrotoxicidad por ciclosporina ni tampoco diferencias histopatológicas entre ciclosporina y tacrolimus. En la lesión aguda de la nefrotoxicidad tubular el rasgo más característico es la microvacuolización isométrica de túbulos proximales y la presencia de megamitocondrias. En su evolución se producen calcificaciones intratubulares. Este tipo de lesiones se observan frecuentemente en los riñones trasplantados, aunque el hecho de que la tubulopatía sea más común en los riñones injertados que en los de pacientes portadores de otros trasplantes, posiblemente indica que la isquemia fría y de re-anastomosis ejerce un efecto potenciador sobre la misma. Se han descrito lesiones tipo microangiopático, a nivel glomerular, muy similares a las descritas en el Síndrome hemolítico-urémico (SHU). También se afectan arteriolas y capilares en ausencia de infiltrado inflamatorio, a diferencia de la vasculopatía del rechazo agudo que tiende a aparecer en arterias interlobulares y arcuatas con presencia de endotelitis y engrosamiento intimal. Es muy posible que esta lesión no sea nefrotóxica «per se», sino el producto de un verdadero SHU leve, con representación histológica muy segmentaria, desencadenado por la ciclosporina mediante lesión en las células endoteliales.

##### 4.2. Nefropatía Crónica:

Los IC (ciclosporina y tacrolimus) se asocian a disfunción renal crónica, clínica e histológica. En pacientes con trasplantes de otros órganos sólidos también se observa reducción significativa del filtrado glomerular y, en ocasiones, progresión a la insuficiencia renal crónica terminal. Las biopsias renales realizadas muestran lesiones obliterativas arteriolas, con esclerosis glomerular, atrofia tubular y fibrosis intersticial. El efecto nefrotóxico en el trasplante renal es más difícil de delimitar, ya que, como en el caso de las lesiones agudas, no existe ninguna lesión renal que sea exclusivamente debida a los inhibidores de la calcineurina (38-40). Recientemente se ha publicado por el grupo de Snanoudj, la escasa especificidad en la hialinosis arteriolar “nodular” de la capa muscular atribuida clásicamente al efecto nefrotóxico de la ciclosporina. Por todo ello, se acepta que existe una asociación de lesiones por diferentes agresiones sobre el injerto renal, como la isquemia-reperusión, los episodios de rechazo, las infecciones bacterianas o víricas, la menor masa nefronal



trasplantada, hipertensión arterial, hiperlipidemia, diabetes, etc. En general, las lesiones más sugestivas de nefrotoxicidad crónica por inhibidores de la calcineurina son la presencia de hialinosis arteriolar por necrosis de las células musculares lisas de la pared de la arteriola y su sustitución por un depósito hialino, típicamente subintimal y periadventicial, PAS positivo. Esta lesión arteriolar tiende a la oclusión luminal que va a provocar glomerulosclerosis focal progresiva, así como, fibrosis intersticial y atrofia tubular, que pueden adoptar una característica disposición en bandas.

## 5. PATOLOGÍA RELACIONADA CON INFECCIONES VIRICAS

### 5.1. Nefropatía por poliomavirus BK

Es un virus ADN de la familia del poliomavirus, ubicuo, que no produce enfermedad en individuos sanos, siendo un virus latente en células tubulares y uroteliales (detectable sólo por PCR en esta fase). La inmunodeficiencia de los pacientes trasplantados lo reactiva y puede producir enfermedad renal; de hecho, es la infección más frecuente en los injertos renales.

Las lesiones histológicas se relacionan con inclusiones nucleares, lisis y denudación del epitelio de los túbulos, inicialmente en los de tipo colector a nivel medular.

Pueden estudiarse en la citología de orina (células *decoy*), microscopía óptica (inclusiones víricas), inmunohistoquímica (antígeno T del Sv40), técnicas moleculares (PCR) o microscopía electrónica (partículas víricas como estructuras cristalinas).

En 2009, desde la reunión de Banff, se propone una clasificación en 3 estadios: cambios iniciales (estadio A), cambios agudos/floridos (estadio B) y cambios esclerosantes tardíos. (estadio C).

### 5.2. Nefropatía por citomegalovirus (CMV)

El CMV, virus ADN, pertenece a la familia del herpes 5 humano. La afectación renal suele estar asociada a infección sistémica con alterción de células epiteliales, endoteliales y monocitos. A nivel renal las células infectadas están aumentadas de tamaño con núcleos agrandados con inclusiones centrales rodeadas por un halo claro (ojo de búho). El diagnóstico se apoya en el estudio inmunohistoquímico frente al antígeno específico, PCR o hibridación in situ (las dos últimas pueden discriminar infección latente y enfermedad). La infección por CMV puede modular la respuesta inmunitaria y favorecer episodios de rechazo agudo.

### 5.3. Otras nefropatías víricas: VHC y VHB

Producen lesiones histológicas diversas, principalmente, glomerulonefritis membranoproliferativa y membranosa, respectivamente.

En ambas es necesario establecer el diagnóstico diferencial con las formas primarias de estas glomerulonefritis.

## III. BIOPSIA POSTRASPLANTE DE PROTOCOLO

En general, en la mayoría de los centros, la biopsia del riñón trasplantado se realiza por indicación clínica para diagnosticar la causa de disfunción del injerto (aumento inexplicado o persistente de creatinina, aparición de proteinuria *de novo*, función retardada del injerto). Aunque la evaluación clínica sugiera un diagnóstico concreto, como el rechazo agudo, la biopsia es necesaria para clarificar la variedad y gravedad del rechazo y guiar el tratamiento.

Sin embargo, la elevación de la creatinina sérica y la proteinuria no son indicadores sensibles de disfunción renal y pueden no aparecer hasta que el proceso patológico sea difuso a avanzado. Si bien hay entidades, como el rechazo hiperagudo y la recidiva de glomerulosclerosis focal y segmentaria, que se manifiestan clínicamente ya al cabo de horas o días del trasplante, otras causas de disfunción del injerto se desarrollan a lo largo de un período prolongado y presentan una fase subclínica que no se detecta con la monitorización habitual de laboratorio. La aparición de lesiones histológicas precede a la aparición del deterioro de la

función renal y, por tanto, las biopsias de protocolo se realizarían para intentar diagnósticos y tratamientos más precoces.

### Concepto

*Las biopsias renales de protocolo son biopsias realizadas en pacientes con función renal estable en momentos preestablecidos de seguimiento.*

Aunque no hay consenso sobre cuál es el momento óptimo para realizar estas biopsias, en general se realizan a los 3, 6 y 12 meses postrasplante.

Cuando la inmunosupresión era menos potente había una prevalencia alta de rechazo subclínico al mes postrasplante. En la actualidad la combinación de los distintos inmunosupresores disponibles ha reducido la tasa de rechazo agudo por debajo del 20%. Además, algunos infiltrados inflamatorios observados hasta las 6 semanas postrasplante podrían corresponder a una respuesta reparadora peritrasplante (fenómeno de isquemia-reperusión) más que a un rechazo. Por consiguiente, en la actualidad muchos programas esperan de 3 a 6 meses tras el trasplante para realizar la primera biopsia de protocolo.

Las biopsias de protocolo son un tema debatido y no se realizan de forma universal.

En la actualidad, la práctica de biopsias de protocolo en todos los pacientes (de alto y bajo riesgo) ha sido adoptada solamente por el 17% de los centros de trasplante de los Estados Unidos. Algunos centros reservan las biopsias de protocolo para pacientes de alto riesgo.

Según los distintos centros, se recomienda la práctica de biopsias renales de protocolo:

- En todos los pacientes trasplantados (sistemáticas).
- En tan sólo determinados pacientes con alto riesgo inmunológico (hiperinmunizados, sensibilizados, ABO incompatibles).
- Como parte de los protocolos de investigación y ensayos clínicos.

### Características de la muestra y estudio histológico

La biopsia renal es necesaria para el diagnóstico de rechazo, pero las características de la muestra pueden dar lugar a importantes limitaciones. Es importante que la muestra de corteza renal sea adecuada para hacer fiables las observaciones patológicas y que el procedimiento merezca la pena para el tratamiento del paciente. Esto es especialmente cierto en el contexto de biopsias de protocolo, donde el beneficio potencial para el paciente debe pesar más que cualquier riesgo.

Según la clasificación de Banff 97, se define como muestra de corteza renal adecuada aquella que contiene al menos 10 glomérulos y dos arterias, siendo el límite mínimo de 7 glomérulos y al menos una arteria. Las muestras de médula renal pueden también ser útiles para la detección precoz de infecciones por poliomavirus.

Se recomienda que se obtengan al menos dos cilindros, preferiblemente a alguna distancia el uno del otro, para así optimizar la detección de procesos patológicos que, como el rechazo y la infección, pueden ser focales. Otro riesgo es la subjetividad en la interpretación de la biopsia, con diagnósticos discordantes asociados a la variabilidad interobservador entre los patólogos. A pesar de estas limitaciones, las biopsias de trasplante son una herramienta esencial para el diagnóstico del rechazo, tanto subclínico como clínico.

Las biopsias de protocolo se realizan con la misma técnica que las biopsias hechas por indicación clínica y las contraindicaciones son las mismas en ambos tipos. La utilización de agujas de 16 G proporciona mejor representación cortical y el riesgo de complicaciones importantes es similar al de las biopsias practicadas con agujas de 18 G. En una serie de más de 3500 biopsias de protocolo el porcentaje de complicaciones importantes varió entre el 0,4 y el 1% y rara vez se produjo la pérdida del injerto.

El examen histológico se realiza con las tinciones estándar de microscopía óptica (H&E, PAS, tricrómico de Masson y plata-metenamina) y en el mismo se valora el depósito de c4d en los capilares peritubulares (con inmunohistoquímica en el tejido parafinado y con inmunofluorescencia en el tejido congelado). En los primeros 6 meses postrasplante, a menos que haya una indicación clínica, suele ser suficiente la evaluación de la biopsia con microscopía óptica, en tanto que a partir de los 6 meses se evalúa también con inmunofluo-

rescencia para inmunoglobulinas, complemento y cadenas ligeras kappa y lambda. De forma excepcional se practican estudios de microscopia electrónica.

Es importante, por otra parte, tener en cuenta la carga que estas biopsias suponen para los centros de trasplante (coste, esfuerzo, tiempo invertido por los facultativos, pruebas de laboratorio, observación pre y post biopsia, seguimiento, etc).

## Objetivos

### - Rechazo subclínico

El objetivo principal de la biopsia de protocolo durante el primer año postrasplante es la detección y tratamiento del rechazo subclínico, pues con la inmunosupresión actual hay una baja incidencia de rechazo clínico durante el primer año postrasplante.

*Por definición, el rechazo subclínico se refiere a la presencia de rasgos histológicos de rechazo agudo (grado de Banff IA o superior) en la biopsia renal en ausencia de deterioro de la función renal. Por consiguiente, sólo puede identificarse en pacientes a los que se realiza biopsia de protocolo.*

El rechazo agudo subclínico puede dividirse en rechazo mediado por células T o por anticuerpos. Aunque el concepto de rechazo subclínico existe desde hace más de dos décadas, la importancia de su diagnóstico mediante biopsias de protocolo y su manejo han sido objeto de continuos estudios. Los posibles mecanismos son similares a los del rechazo agudo clínico.

El rechazo agudo subclínico mediado por células T se cree que es debido a una respuesta aloinmune contra los antígenos del donante. El rechazo subclínico mediado por anticuerpos se asocia a la presencia de inflamación en la microcirculación, con o sin depósitos de c4d en los capilares peritubulares, en presencia de anticuerpos donante-específicos. En su patogenia juegan un papel preponderante los anticuerpos donante-específicos preexistentes o formados *de novo*.

La prevalencia es variable y está influenciada por las características demográficas del receptor, las pruebas cruzadas HLA y ABO, el tiempo de la biopsia y el régimen inmunosupresor. En los pacientes tratados con tacrolimus, la incidencia del rechazo subclínico es menor que en los tratados con ciclosporina. En general, la incidencia de rechazo agudo subclínico mediado por células T en pacientes tratados con un régimen basado en tacrolimus y micofenolato, varía entre el 2,6% y el 25% durante el primer año. Por lo que se refiere al rechazo agudo subclínico mediado por anticuerpos, su incidencia varía entre el 3,3% y el 31%. La incidencia mayor se reporta en pacientes de riesgo inmunológico elevado en el momento del trasplante renal.

La mayor preocupación con el rechazo subclínico es que, si se deja sin tratamiento, puede llevar a una lesión crónica tubulointersticial que progresa de forma silente e incrementa el riesgo de pérdida del injerto.

### - Cambios limítrofes

Según la clasificación de Banff, el término cambios limítrofes (*borderline*) se refiere a la inflamación intersticial y la tubulitis por debajo del umbral del rechazo agudo celular. Cuando se detectan estos cambios en la biopsia, en ausencia de deterioro de la función renal, su significado es ambiguo y representan un reto para el clínico.

Los cambios limítrofes se observan en el 10 al 15% de las biopsias de protocolo durante el primer año postrasplante.

Hay estudios que sugieren que los cambios limítrofes detectados en las biopsias de protocolo pueden tener un efecto deletéreo en el injerto, pues promueven la producción de nuevos anticuerpos donante-específicos, aumentan el riesgo de inflamación persistente y se asocian a un mayor grado de fibrosis intersticial y glomerulopatía del trasplante al cabo de un año.

### - Cambios crónicos: fibrosis intersticial / atrofia tubular

Las biopsias de protocolo pueden identificar también cambios histológicos crónicos en los diferentes compartimentos del riñón, sin que los mismos se vean reflejados en el deterioro de la función renal. Así pues, estas biopsias proporcionan un retrato más preciso de la salud del injerto que los valores de laboratorio aislados.

Los hallazgos histológicos en biopsias de protocolo realizadas al año postrasplante reflejan el efecto acumulativo de la lesión peritrasplante, la respuesta aloinmune y la toxicidad de los fármacos inmunosupresores.

Nankivell et al, en un estudio prospectivo con biopsias renales seriadas, observaron que la nefropatía crónica del trasplante evolucionaba en dos fases: una precoz, durante el primer año, en la que progresó el daño tubulointersticial crónico, y otra tardía, después del primer año, caracterizada por la progresión de la hialinosis vascular y la glomerulosclerosis. A los 10 años del trasplante observaron que el 100% de los pacientes tenían nefropatía crónica del trasplante, la cual era de grado III en el 58,5% de los mismos.

Un índice alto de cronicidad implica una baja reserva funcional renal. Sin embargo, el grado de cambios crónicos no refleja toda la verdad, ya que la presencia de inflamación coexistente con la fibrosis puede tener un papel aun más importante en el pronóstico y en la supervivencia del injerto. En ausencia de inflamación, la fibrosis intersticial representa enfermedad del donante o lesiones previas y puede ser no progresiva.

**- Alteraciones patológicas no relacionadas con factores inmunológicos**

Una de las causas más comunes del fracaso del injerto como resultado de factores no inmunológicos es la nefrotoxicidad por anticalcineurínicos, que puede ser reversible si la inmunosupresión se modifica pronto. El uso de biopsias de protocolo en este contexto puede ser de gran valor para identificar este tipo de nefrotoxicidad en pacientes con función renal estable.

La hialinosis arteriolar es un rasgo potencial de toxicidad subclínica por anticalcineurínicos y, de forma típica, se encuentra en la biopsia de protocolo a los 12 meses postrasplante en el 42% de los casos. Otros rasgos que pueden relacionarse con nefrotoxicidad por anticalcineurínicos son la fibrosis intersticial en banda y las microcalcificaciones (halladas en el 88% y el 79% de los casos, respectivamente). También puede producirse toxicidad aguda (tubulopatía), que se observa, en general, en los primeros 6 meses postrasplante.

#### **IV. CONCLUSIONES**

Al igual que cualquier otro programa de cribado, las biopsias de protocolo deben tener unos objetivos claros y deben distinguir entre alteraciones patológicas y hallazgos benignos, evitando así el sobrediagnóstico que conduce al sobretratamiento.

La importancia de las biopsias de protocolo se relaciona principalmente con los siguientes puntos:

- Las biopsias de protocolo son necesarias para detectar el rechazo en la fase subclínica.
- El tratamiento del rechazo subclínico puede ayudar a prevenir la progresión y el desarrollo posterior de la fibrosis intersticial / atrofia tubular y la glomerulopatía del trasplante.
- La presencia de fibrosis intersticial en las biopsias de protocolo, especialmente en conjunción con la inflamación persistente, predice la baja supervivencia del injerto.

# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DIGESTIVA DE LA SEAP

*Coordinador: Antonio Ferrández (antonio.ferrandez@uv.es)*



# Informes protocolizados de las piezas neoplásicas de esófago

Nuria Baixeras<sup>1</sup>, Miriam Cuatrecasas<sup>2</sup>, Carme Ferrer<sup>3</sup>, Mar Iglesias<sup>4</sup>, Stefania Landolfi<sup>5</sup>, Ruth Orellana<sup>6</sup>, M José Paules<sup>1</sup>, Socorro Razquín<sup>7</sup>. (Por orden alfabético).

1 Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat

2 Hospital Clínic de Barcelona

3 Hospital Universitario Mútua de Terrassa

4 Hospital del Mar, Barcelona

5 Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

6 Hospital Universitari Parc Taulí, Sabadell

7 Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona

## I. CONSIDERACIONES GENERALES.

El informe anatómo-patológico protocolizado de las piezas quirúrgicas de resección de lesiones neoplásicas de esófago es esencial para el manejo adecuado de los pacientes. Existen varias guías publicadas que describen los parámetros que deben incluir estos informes.

Este documento intenta resumir los datos obligatorios que, basados en el análisis de la literatura, son utilizados como base las guías internacionales ya redactadas, y que deben incluirse en el informe patológico de las piezas quirúrgicas.

En la nueva edición del TNM (8ª Edición), cuando la neoplasia afecta a la unión esófago-gástrica, o si se localiza en estómago, a  $\leq 2$  cm de la unión esófago-gástrica, debe aplicarse el protocolo de tumor esofágico. Los cánceres de cardias, sin afectación de la unión esófago-gástrica, deben considerarse en el esquema de tumores gástricos para la estadificación.

## II. ESTUDIO INTRAOPERATORIO.

En las resecciones de tumores esofágicos suele realizarse el estudio peroperatorio para valorar los márgenes laterales de resección, normalmente el que se encuentra más cercano a la neoplasia, para identificar neoplasia infiltrante o displasia epitelial.

## III. ESTUDIO MACROSCÓPICO.

Debería incluir los siguientes datos: Tipo de pieza y tamaño de la misma, localización de la neoplasia y relación con la unión esófago-gástrica, si se encuentra en contacto o cercana, a la misma, configuración de

la neoplasia, tamaño de la neoplasia (tres dimensiones), presencia de perforación, nivel macroscópico de invasión y distancia a los márgenes (proximal, distal y radial).

#### IV. ESTUDIO MICROSCÓPICO.

Se recomienda analizar ampliamente la neoplasia, la mucosa adyacente y cualquier lesión adicional que se identifique macroscópicamente, así como los márgenes de resección.

**Inclusión post-neoadyuvancia:** En estos casos se debe incluir la totalidad del área identificada macroscópicamente como lecho tumoral. Si la zona identificada como lecho tumoral mide más de 8 cm y macroscópicamente no parece haber una regresión tumoral significativa se incluye, en un primer tiempo, una sección del tumor incluyendo la máxima medida longitudinal y vertical. Si no hay evidencia de tumor viable microscópicamente, toda el área tumoral debe ser estudiada microscópicamente.

**Diagnóstico microscópico post-neoadyuvancia:** Para considerar una respuesta patológica completa se recomienda realizar tres secciones/niveles adicionales de cada bloque. La presencia de acúmulos de mucina acelular y las áreas de necrosis no deben ser interpretadas como evidencia de tumor residual. Si ypN0, es recomendable realizar estudio inmunohistoquímico con un citoqueratina de amplio espectro para comprobarlo.

**Casos de adenocarcinoma sobre Esófago de Barrett:** Realizar inclusión mapeada de toda la lesión compatible con esófago de Barrett macroscópicamente. En el informe especificar el diagnóstico por separado de cada área para establecer un mapa del diagnóstico. Tratar la zona macroscópicamente tumoral según el protocolo estándar para tumores esofágicos.

#### V. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico patológico debe incluir estos datos:

**1. Tipo histológico:** Los informes deben incluir el tipo histológico basándose en la clasificación de la OMS actual.:

- Carcinoma escamoso
- Carcinoma verrucoso (escamoso)
- Carcinoma fusocelular (escamoso)
- Adenocarcinoma
- Carcinoma adeno-escamoso
- Carcinoma adenoide quístico
- Carcinoma mucoepidermoide
- Carcinoma neuroendocrino de alto grado:
  - De célula grande
  - De célula pequeña
- Carcinoma indiferenciado
- Otros: .....
- Carcinoma, el tipo no se puede especificar

**2. Grado histológico:** Debe indicarse el grado de diferenciación:

- Para el adenocarcinoma:
  - Grado 1: Bien diferenciado (más del 95% del tumor está constituido por glándulas)
  - Grado 2: Moderadamente diferenciado (entre el 50 y el 95% constituido por glándulas)
  - Grado 3: Poco diferenciado (entre el 5 y el 50% constituido por glándulas),
  - Grado 4: Indiferenciado (menos del 5% constituido por glándulas)
- Para el carcinoma escamoso:
  - Grado 1 (bien diferenciado)
  - Grado 2 (moderadamente diferenciado)



- Grado 3 (pobrementemente diferenciado)
- Grado 4 (indiferenciado)

Cuando exista heterogeneidad en el grado histológico, se debe adjudicar el más elevado. No deben graduarse los carcinomas medulares, mucoepidermoides y adenoides quísticos ni aquellos casos, de cualquier otro tipo, que hayan recibido tratamiento neoadyuvante.

3. **Extensión de la invasión tumoral (pT):** Aplicando la nueva edición del TNM (8ª Edición), utilizando los prefijos **y** para post-neoadyuvancia, **m** para tumores sincrónicos y **r** para recurrencias.
4. **Indicar la presencia de invasión perineural, de vasos de pequeño calibre y/o invasión de vasos venosos extramural.**
5. **Ganglios (pN):** Aplicando la nueva edición del TNM (8ª Edición), utilizar los prefijos **y** para post-neoadyuvancia, **m** para tumores sincrónicos y **r** para recurrencias, así como los conceptos de células aisladas/micrometástasis:
  - Identificación de células tumorales aisladas (clusters de células de  $\leq 0.2\text{mm}$  de tamaño), mediante HE, IHQ o molecular, se considera N0.
  - Micrometástasis son clusters de células entre 0.2mm y 2mm que, si son visibles con HE o IHQ, deben considerarse pN1mic. Si se detectan por técnicas NO morfológicas (molecular o citometría de flujo) debe clasificarse como N0 o M0.
6. **Estado de los márgenes de resección:** Indicando el estado de todos los márgenes: proximal, distal y radial. En caso de que estén libres, indicar la distancia de la neoplasia al margen más cercano en mm. El margen radial representa el margen de tejidos blandos no revestidos por peritoneo, cercanos al punto de infiltración más profundo del tumor. Existe controversia en cuanto a la distancia óptima en el margen radial. Después de la revisión de la literatura consideramos que el margen de 1mm está afecto en piezas de esófago.
7. **Grado Regresión post-tratamiento neoadyuvante:** En los casos que hayan recibido tratamiento neoadyuvante se deberá indicar el grado de regresión (clasificación de Mandard):

Grado	Descripción
TRG1	Fibrosis. No tumor. Respuesta total.
TRG2	Células sueltas/glándulas aisladas en mucha fibrosis.
TRG3	Predomina la fibrosis sobre el tumor
TRG4	Predomina el tumor sobre la fibrosis
TRG5	No existe regresión tumoral

## VI. ESTUDIO DE BIOMARCADORES

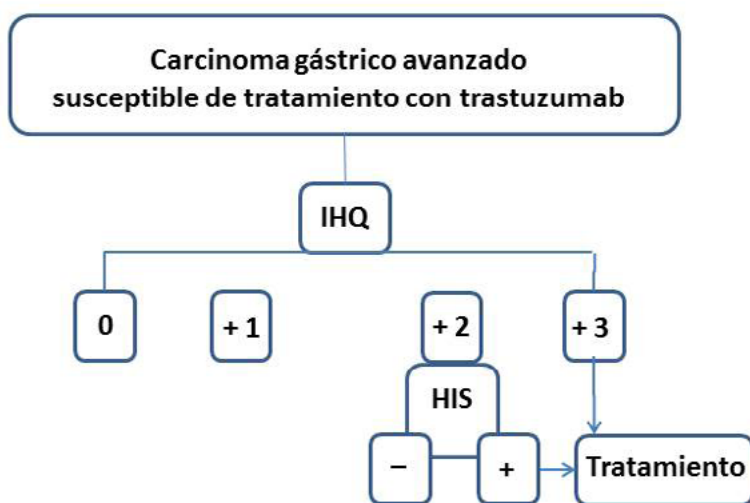
### Determinación de *HER2* en adenocarcinomas de esófago distal o de la unión esófago-gástrica.

El ensayo clínico fase III ToGA internacional y multicéntrico mostró que el anticuerpo monoclonal humanizado anti-HER2/neutrastuzumab (Herceptin) prolonga la supervivencia de pacientes con adenocarcinoma gástrico y de la unión gastroesofágica que son HER2-positivos.

El tratamiento dirigido contra la diana HER2 se ha aprobado en pacientes con carcinomas gástricos o de la unión gastroesofágica localmente avanzados o metastásicos que tengan sobreexpresión (3+) de HER2 o amplificación por técnicas de Hibridación *n situ*.

El test de HER2 en el carcinoma gástrico o de la unión esófago-gástrica se realiza para determinar si son candidatos a terapia anti-HER2.

Algoritmo de la Determinación de HER2:



IHQ, inmunohistoquímica, HIS, hibridación *in situ*  
 Fase post-analítica (interpretación) basada en Virchows Arch 2010;457: 299-307

Se acaba de publicar una nueva guía para la correcta determinación de *HER2* en cáncer gástrico o de la unión esófago-gástrica (Bartley A et al., 2016).

En ella se establecen diferentes recomendaciones en relación a la determinación de *HER2* en estas neoplasias. Se debe tener en cuenta que no existe modificación en la determinación de *HER2* a nivel protéico mediante estudio inmunohistoquímico, sin embargo, existen ciertas diferencias en la determinación mediante técnicas de hibridación *in situ*.

## VII. REQUISITOS MÍNIMOS EN EL INFORME DE LA DETERMINACIÓN DE HER2.

- Fijación:
  - Tipo de fijador:
  - Tiempo de isquemia fría:
  - Tiempo de fijación:
- Anticuerpo y método utilizado:
- Idoneidad de la muestra:
- Interpretación de los resultados:
  - Inmunohistoquímica:
    - Negativo (0)
    - Negativo (1)
    - No concluyente (2+)
    - Positivo (3+)
    - Indeterminado
  - Hibridación *in situ*:
    - Negativo (No amplificado)
    - Positivo (Amplificado)
    - Indeterminado
  - Número de células evaluadas:
  - Media de copias de *HER2* por célula:
  - Media de copias de CEP 17 por célula:
  - Ratio *HER2*:CEP17:

- Indicar si es heterogéneo o homogéneo:
- Especificar si participa en algún control de calidad:
- Nombre de la persona que realiza la determinación:

### **Bibliografía:**

1. Washington K, Berlin J, Branton P et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Esophagus. College of American Pathologists (CAP). 2013.
2. Bosman FT; World Health Organization; International Agency for Research on Cancer. WHO classification of tumours of the digestive system. IARC Press: Lyon. 2010.
3. Hamilton S.R., Aaltonen L.A. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. IARC Press: Lyon 2000.
4. Langer R, Ott K, Feith M, et al. Prognostic significance of histopathological tumor regression after neoadjuvant chemotherapy in esophageal adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2009; 22: 1555-1563.
5. Mirza A, Navee A, Hayes S et al. Assessment of Histopathological Response in Gastric and Gastro-Oesophageal Junction Adenocarcinoma following Neoadjuvant Chemotherapy: Which Scoring System to Use? International Scholarly Research Network ISRN Pathology. 2012.
6. Karamitopoulou E, Thies S, Zlobec I et al. Assessment of tumor regression of esophageal adenocarcinomas after neoadjuvant chemotherapy: comparison of 2 commonly used scoring approaches. *Am J Surg Pathol*. 2014; 38: 1551-1556.
7. Chang F, Deere H, Mahadeva U et al. Histopathologic examination and reporting of esophageal carcinomas following preoperative neoadjuvant therapy: practical guidelines and current issues. *Am J Clin Pathol*. 2008; 129: 252-262.
8. Benoit D, Journo X, Avaro JP, Michelet P et al. Extracapsular lymph node involvement is a negative prognostic factor after neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced esophageal cancer. *J Thorac Oncol*. 2009; 4: 534-539.
9. Feith M, Stein H.J., Rosenberg R et al. Lymph node "micrometastases" and "microinvolvement" in esophageal carcinoma. *Onkologie*. 2000; 23: 330-333.
10. López-Ríos F, Concha A, Corominas JM et al. Consenso de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) sobre la determinación de HER2 en el carcinoma gástrico. *Rev Esp Patol*. 2011; 44: 32-48.
11. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomized controlled trial. *Lancet*. 2010; 376: 687-697.
12. Bartley AN, Christ J, Fitzgibbons PL et al. Members of the Cancer Biomarker Reporting Committee, College of American Pathologists. Template for reporting results of HER2 (ERBB2) biomarker testing of specimens from patients with adenocarcinoma of the stomach oesophagogastric junction. *Arch Pathol Lab Med*. 2015; 139: 618-620.

13. Bartley A, Washington MK, Ventura CB, et al. HER2 testing and clinical decision making in gastroesophageal adenocarcinoma: guideline from the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *Am J Clin Pathol.* 2016; 146: 647-669.

# Informes protocolizados de las piezas neoplásicas de estómago

Nuria Baixeras<sup>1</sup>, Miriam Cuatrecasas<sup>2</sup>, Carme Ferrer<sup>3</sup>, Mar Iglesias<sup>4</sup>, Stefania Landolfi<sup>5</sup>, Ruth Orellana<sup>6</sup>, M José Paules<sup>1</sup>, Socorro Razquín<sup>7</sup>. (Por orden alfabético).

1 *Hospital Universitari de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat*

2 *Hospital Clínic de Barcelona*

3 *Hospital Universitario Mútua de Terrassa*

4 *Hospital del Mar, Barcelona*

5 *Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona*

6 *Hospital Universitari Parc Taulí, Sabadell*

7 *Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona*

## I. CONSIDERACIONES GENERALES.

El informe anatómo-patológico protocolizado de las piezas quirúrgicas de resección de lesiones de estómago, es esencial para el manejo adecuado de los pacientes. Debe incluir todos los datos histológicos necesarios para predecir el pronóstico, así como la determinación de los biomarcadores. Existen varias guías publicadas que describen los parámetros que deben incluir estos informes.

Este documento intenta resumir los datos obligatorios recogidos en el análisis de la literatura, utilizando como base las guías internacionales ya redactadas, deben incluirse en el informe patológico de estas piezas quirúrgicas.

En la nueva edición del TNM (8ª Edición) se debe aplicar el protocolo de tumor gástrico cuando éste NO afecte a la unión esófago-gástrica y se localice a más de 2 cm de la unión esófago-gástrica. Los cánceres de cardias, sin afectación de la unión esófago-gástrica, deben considerarse en el esquema de tumores gástricos para la estadificación.

## II. ESTUDIO INTRAOPERATORIO.

En las resecciones de tumores gástricos suele realizarse estudio peroperatorio para valorar los márgenes de resección, normalmente el que se encuentra más cercano a la neoplasia, sobre todo si el diagnóstico previo era de carcinoma pobremente cohesivo o anillo de sello por su comportamiento más infiltrativo.

## III. ESTUDIO MACROSCÓPICO.

Debería incluir los siguientes datos: Tipo de pieza y tamaño de la misma, localización de la neoplasia y relación con la unión esófago-gástrica si se encuentra en contacto o cercana, configuración de la neoplasia

(Tipo de Borrmann para neoplasias gástricas avanzadas (Exofítica (tipo I de Borrmann), fungante (tipo II de Borrmann), ulcerada (tipo III de Borrmann), infiltrativa (Tipo IV de Borrmann)), tamaño de la neoplasia (tres dimensiones), presencia de perforación, nivel macroscópico de invasión y distancia a los márgenes (proximal, distal y radial).

#### IV. ESTUDIO MICROSCÓPICO.

Se recomienda analizar ampliamente la neoplasia, la mucosa adyacente y cualquier lesión adicional que se identifique macroscópicamente, así como los márgenes de resección. Se recomienda también disecar y analizar al menos 15 ganglios linfáticos de la linfadenectomía que incluye la pieza.

**Inclusión post-neoadyuvancia:** En estos casos se debe incluir la totalidad del área identificada macroscópicamente como lecho tumoral. Si la zona identificada como lecho tumoral mide más de 8 cm y macroscópicamente no parece haber una regresión tumoral significativa se incluye, en un primer tiempo, una sección del tumor incluyendo la máxima medida longitudinal y vertical. Si no hay evidencia de tumor viable microscópicamente, toda el área tumoral debe ser incluida.

**Diagnóstico microscópico post-neoadyuvancia:** Para considerar una respuesta patológica completa se recomienda realizar tres secciones/niveles adicionales de cada bloque.

La presencia de acúmulos de mucina acelular y las áreas de necrosis no deben ser interpretadas como evidencia de tumor residual.

Si ypN0 es recomendable realizar estudio inmunohistoquímico con una citoqueratina de amplio espectro para comprobarlo.

#### V. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico patológico debe incluir estos datos:

1. **Tipo histológico:** Basándose en la clasificación de la OMS actual, añadiendo la clasificación de Lauren en los casos que sean necesarios:
  - Adenocarcinoma
  - Adenocarcinoma papilar (tipo intestinal según la clasificación de Lauren)
  - Adenocarcinoma tubular (tipo intestinal según la clasificación de Lauren)
  - Adenocarcinoma mucinoso (componente mucinoso en más del 50%)
  - Carcinoma pobremente cohesivo (tipo difuso según la clasificación de Lauren). Especificar si contiene células en anillo de sello.
  - Carcinoma de células en anillo de sello (más del 50% del tumor)
  - Carcinoma adenoescamoso
  - Carcinoma escamoso
  - Adenocarcinoma hepatoide
  - Carcinoma de célula pequeña
  - Carcinoma medular (carcinoma con estroma rico en linfocitos)
  - Carcinoma indiferenciado
  - Tumor neuroendocrino Grado 1 (NET G1)
  - Tumor neuroendocrino Grado 2 (NET G2)
  - Carcinoma neuroendocrino de células grandes
  - Carcinoma neuroendocrino de células pequeñas
  - Carcinoma mixto adeno-neuroendocrino (MANEC). (Debe contener >30% de componente neuroendocrino o de cada uno de los componentes)
2. **Grado histológico:**
  - Grado 1: Bien diferenciado (más del 95% del tumor está constituido por glándulas)
  - Grado 2: Moderadamente diferenciado (entre el 50 y el 95% constituido por glándulas)

- Grado 3: Poco diferenciado (entre el 5 y el 50% constituido por glándulas).
- Grado 4: Indiferenciado (menos del 5% constituido por glándulas)

Si existe heterogeneidad en el grado histológico, se debe seleccionar el más elevado. No se gradúan los carcinomas medulares, ni tampoco debe aplicarse el grado histológico si ha habido un tratamiento neo-adyuvante previo.

3. **Extensión de la invasión tumoral (pT):** Aplicando la nueva edición del TNM (8ª Edición), utilizar los prefijos **y** para post-neoadyuvancia, **m** para tumores sincrónicos y **r** para recurrencias.
4. **Patrón de crecimiento en la periferia tumoral:** Indicando la clasificación de Ming (expansivo, infiltrativo, mixto o indeterminado).
5. **Indicar la presencia de invasión perineural, de vasos de pequeño calibre y/o invasión de vasos venosos extramural.**
6. **Ganglios (pN):** Aplicando la nueva edición del TNM (8ª Edición), utilizar los prefijos **y** para post-neoadyuvancia, **m** para tumores sincrónicos y **r** para recurrencias y los conceptos de células aisladas/micrometástasis:
  - Identificación de células tumorales aisladas (clusters de células de  $\leq 0.2\text{mm}$  de tamaño), mediante HE, IHQ o molecular, se considera N0.
  - Micrometástasis son clusters de células entre 0.2mm y 2mm que, si son visibles con HE o IHQ, deben considerarse pN1mic. Si se detectan por otra técnica NO morfológica (molecular o citometría de flujo) debe clasificarse como N0 o M0.
7. **Estado de los márgenes de resección:**  
Indicando el estado de todos los márgenes: proximal, distal y radial.  
En el estómago el margen de resección epiplóico menor (ligamentos hepatoduodenal y hepatogástrico) y mayor son los únicos márgenes radiales. Es importante que el cirujano los marque con un punto de sutura o con un clip y éste se considera afecto cuando se vean células tumorales en contacto con la tinta.
8. **Grado de Regresión post-tratamiento neoadyuvante:** En los casos que hayan recibido tratamiento neoadyuvante se deberá indicar el grado de regresión (clasificación de Becker):

Grado	Descripción
1a	No tumor residual/lecho tumoral
1b	< 10% tumor residual/lecho tumoral
2	10–50% tumor residual /lecho tumoral
3	> 50% tumor residual/lecho tumoral

## VI. ESTUDIO DE BIOMARCADORES

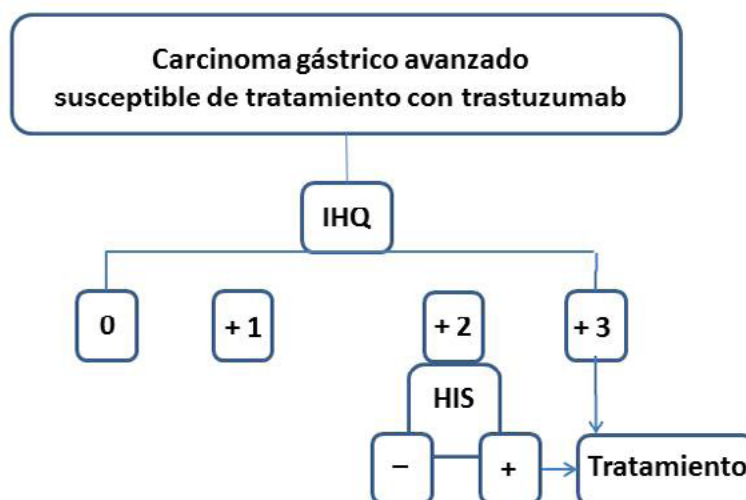
### Determinación de HER2:

El ensayo clínico fase III ToGA internacional y multicéntrico mostró que el anticuerpo monoclonal humanizado anti-HER2/neutrastuzumab (Herceptin) prolonga la supervivencia de pacientes con adenocarcinoma gástrico y de la unión gastroesofágica que son HER2-positivos.

El tratamiento dirigido contra la diana HER2 se ha aprobado en pacientes con carcinomas gástricos o de la unión gastroesofágica metastásicos que tengan sobreexpresión (3+) de HER2 o amplificación por técnicas de Hibridación in situ.

El test de HER2 en el carcinoma gástrico o de la unión esófago-gástrica se realiza para determinar si son candidatos a terapia anti-HER2.

Algoritmo de la Determinación de HER2:



IHQ, inmunohistoquímica, HIS, hibridación *in situ*  
 Fase post-analítica (interpretación) basada en Virchows Arch 2010; 457: 299-307

Se acaba de publicar una nueva guía para la correcta determinación de *HER2* en cáncer gástrico o de la unión esófago-gástrica (Bartley A et al., 2016).

En ella se establecen diferentes recomendaciones en relación a la determinación de *HER2* en estas neoplasias.

Se debe tener en cuenta que no existe modificación en la determinación de *HER2* a nivel protéico mediante estudio inmunohistoquímico, sin embargo, existen ciertas diferencias en la determinación mediante técnicas de hibridación *in situ*.

#### Requisitos mínimos en el informe de la determinación de Her2.

- Fijación:
  - Tipo de fijador:
  - Tiempo de isquemia fría:
  - Tiempo de fijación:
- Anticuerpo y método utilizado:
- Idoneidad de la muestra:
- Interpretación de los resultados:
  - Inmunohistoquímica:
    - Negativo (0)
    - Negativo (1)
    - No concluyente(2+)
    - Positivo (3+)
    - Indeterminado
  - Hibridación *in situ*:
    - Negativo (No amplificado)
    - Positivo (Amplificado)
    - Indeterminado
    - Número de células evaluadas:
    - Media de copias de *HER2* por célula:
    - Media de copias de CEP 17 por célula:
    - Ratio *HER2*:CEP17:



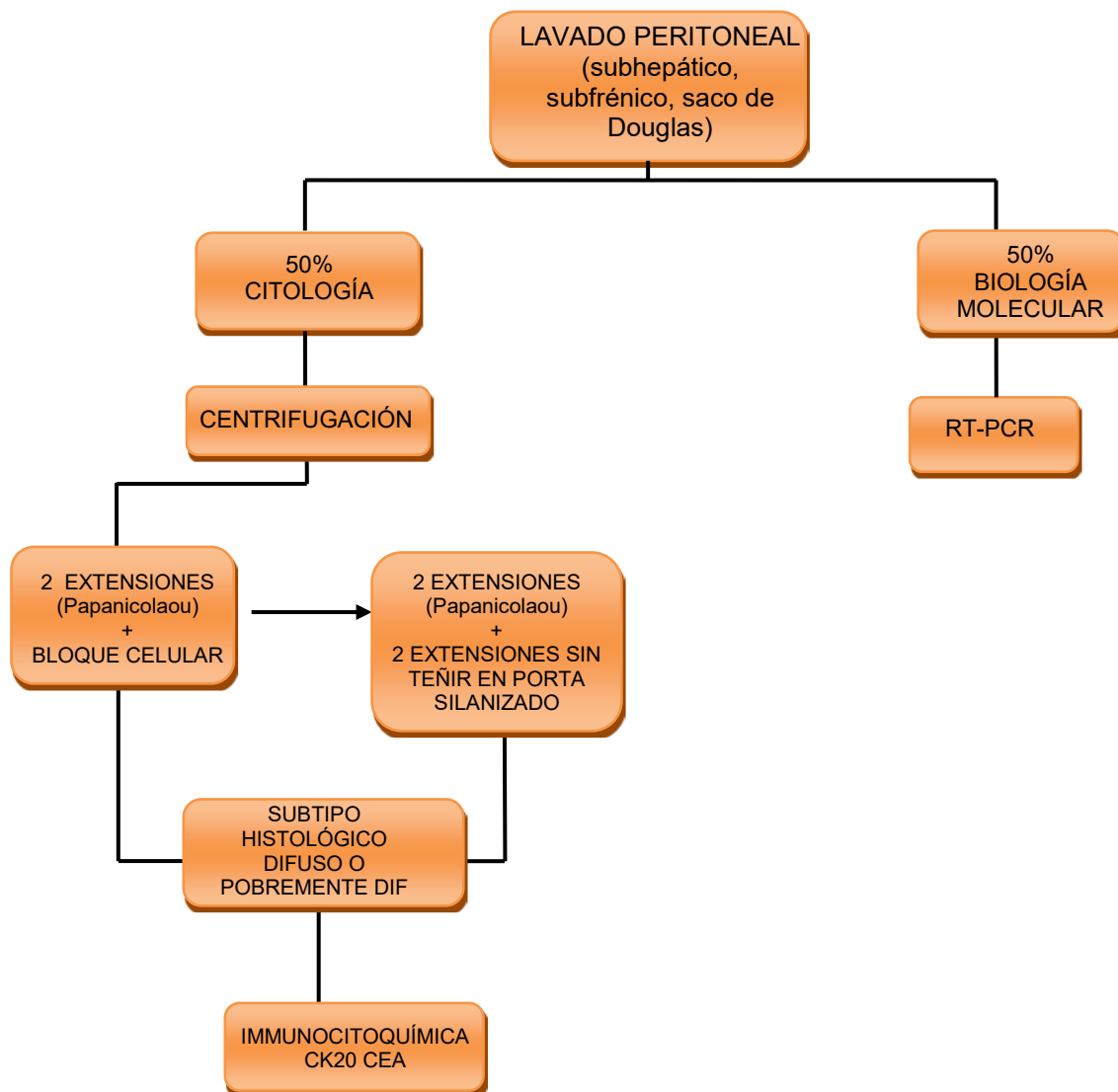
- Indicar si es heterogéneo o homogéneo:
- Especificar si participa en algún control de calidad:
- Nombre de la persona que realiza la determinación:

### VII. POSIBLES ESTUDIOS ADICIONALES

Estos estudios no se realizan en todos los centros, sin embargo estos textos pueden ser de utilidad en los centros dónde se desee implementar este tipo de análisis.

#### 1. Procesamiento del líquido obtenido por lavado peritoneal para citología

El estudio citológico del lavado peritoneal es el “gold standard” para evaluar el riesgo de carcinomatosis peritoneal, pero la sensibilidad de la citología convencional es relativamente baja (22-30% con invasión de la capa serosa). La sensibilidad aumenta (22-75%) si se utiliza inmunohistoquímica, pero sigue siendo baja en determinados subtipos histológicos (difuso y pobremente diferenciado). Por este motivo es recomendable el estudio mediante RT-PCR de la expresión de CEA y CK20, ya que aumenta la sensibilidad de este proceso. Ver esquema.



El diagnóstico citológico y el resultado de la RT-PCR se informan por separado.

## 2. Guía para el manejo de gastrectomías profilácticas de pacientes con mutación de *CDH1* (cáncer gástrico difuso hereditario –CGDH-).

La gran mayoría de los cánceres gástricos (CGs) son esporádicos, pero aproximadamente un 1-3% de los mismos son cánceres hereditarios en relación con enfermedades sindrómicas (Síndrome de Li-Fraumeni, Síndrome Lynch, Síndrome de Peutz-Jeghers, cáncer de mama y ovario hereditarios, poliposis adenomatosa asociada a MUTYH, PAF y Síndrome de Cowden).

Hace más de 15 años, se descubrió que mutaciones germinales en el gen *CDH1* que codifica para la proteína caderina-E, son la causa genética del cáncer gástrico difuso hereditario (CGDH).

El CGHD se define como un síndrome de predisposición heredada al cáncer con un patrón de herencia autosómico dominante. Está causado por una mutación germinal en el gen *CDH1* que codifica para la proteína de adhesión tisular caderina-E. Las mutaciones del gen *CDH1* tienen una alta penetrancia (> 80%) de tal forma que los individuos portadores de una mutación germinal en la caderina-E tienen un riesgo vital de desarrollar cáncer gástrico mayor del 80% y un riesgo elevado también para desarrollar cáncer de mama del tipo lobulillar en el caso de mujeres.

### A. ESTUDIO MACROSCÓPICO DE LAS GASTRECTOMIAS PROFILÁCTICAS

Es necesario el envío de la muestra en fresco desde quirófano.

- Recortar los márgenes de resección con grapas, el omento y los ganglios linfáticos antes de la fijación en formol.
- Abrir la pieza a lo largo de la curvatura mayor.
- Realizar una macrofotografía que se utilizara como plantilla para el muestreo. Esto permitirá identificar la localización exacta de las secciones.
- Recoger para banco de tumores cada lesión identificada macroscópicamente y muestra de tejido sano.
- Fijar la pieza en un soporte plano (tipo corcho) durante 24 horas.
- Muestrear cada lesión identificada y los márgenes de resección.
- Muestrear la pieza entera (inclusión total).
- La localización de cada muestra debe quedar reflejada sobre la macrofotografía.

Con este método resultarán de la inclusión total aproximadamente 200-300 bloques de parafina. Otra técnica de inclusión es la de utilizar megabloques (resultaran un total del aprox. 25 bloques), pero esto imposibilitaría el uso de técnicas especiales. Así mismo, se puede utilizar la técnica de swissroll, que consiste en separar la mucosa y submucosa de la capa muscular, y enrollar segmentos elongados identificados en un mapa, para realizar los bloques de parafina.

### B. ESTUDIO HISTOLÓGICO. En el informe anatomo-patológico es necesario reportar lo siguiente:

- Características del tumor primario
- Número de lesiones
- Localización anatómica de cada lesión (cardias, fundus, cuerpo, zona de transición, antro)
- Medida de cada lesión
- Características de agresividad: pleomorfismo, pérdida de mucina, presencia de células fusiformes, células pequeñas, mitosis, reacción estromal (desmoplasia, reacción inflamatoria linfocítica, eosinofílica, granulomatosa)
- Presencia de invasión linfática, venosa, perineural
- Márgenes de resección (esofágico y duodenal): es necesario especificar la ausencia de mucosa gástrica o de tumor residual.
- Estadío pTNM
- Características de la mucosa no-neoplásica: Como cambios hiperplásicos de la mucosa, vacuolización del epitelio de superficie o cambios globoides.

### C. TÉCNICAS ESPECIALES

- PAS-diestasa (histoquímica): Útil para detectar o confirmar la presencia de carcinoma intramucoso constituido por células neoplásicas dispersas entre foveolas y glándulas.

- Coctel de citoqueratinas (inmunohistoquímica): Útil para confirmar la estirpe epitelial de las células en caso de dudas.
- Caderina-E (inmunohistoquímica): Su expresión puede estar ausente, reducida o presente, dependiendo del tipo de mutación y del mecanismo específico de inactivación del alelo nativo. La expresión de Caderina-E puede estar reducida o ausente también en los CGD que no presentan mutación germinal del gen *CDH1*, y por lo tanto no es indicado su utilización como método de pre-screening para seleccionar pacientes elegibles para análisis mutacional del gen *CDH1*.

### Bibliografía

1. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2010. *Gastric Cancer*. 2011; 14: 113-123.
2. Tang LH, Berlin J, Branton P et al. Protocol for the examination of specimens from patients with carcinoma of the stomach. College of American Pathologists (CAP). 2013.
3. Novelli M and Working Group on Cancer Services. Dataset for the histopathological reporting of gastric carcinoma 2nd Edition. The Royal College of Pathologists. 2007.
4. Bosman FT; World Health Organization; International Agency for Research on Cancer. WHO classification of tumours of the digestive system. IARC Press: Lyon. 2010.
5. Hamilton S.R., Aaltonen L.A. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. IARC Press: Lyon 2000.
6. Becker K, Langer R, Reim D et al. Significance of histopathological tumor regression after neoadjuvant chemotherapy in gastric adenocarcinomas: a summary of 480 cases. *Ann Surg*. 2011; 253: 934-939.
7. Langer R, Ott K, Feith M, et al. Prognostic significance of histopathological tumor regression after neoadjuvant chemotherapy in esophageal adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2009; 22: 1555-1563.
8. Mirza A, Navee A, Hayes S et al. Assessment of Histopathological Response in Gastric and Gastro-Oesophageal Junction Adenocarcinoma following Neoadjuvant Chemotherapy: Which Scoring System to Use? International Scholarly Research Network ISRN Pathology. 2012.
9. Becker K, Mueller JD, Schulmacher C et al. Histomorphology and grading of regression in gastric carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*. 2003; 98: 1521-1530.
10. Lee C-M, Park S-C and Kim J-H. Current Status and Scope of Lymph Node Micrometastasis in Gastric Cancer. *J Gastric Cancer*. 2015; 15: 1-9.
11. Cao L, Hu X, Zhang Y et al. Adverse prognosis of clustered-cell versus single-cell micrometastases in pN0 early gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2011; 103: 53-56.
12. Zeng Y-J, Zhang C-D and Dai D-Q. Impact of lymph node micrometastasis on gastric carcinoma prognosis: A meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2015; 21: 1628-1635
13. Griniatsos J, Michail O, Dimitriou N et al. Lymph node, peritoneal and bone marrow micrometastases in gastric cancer: Their clinical significance. *World J Gastrointest Oncol*. 2012; 4: 6-21.

14. Rodríguez-Santiago JM, Sasako M y Osorio J. TNM 7a edición 2009 (UICC/AJCC) y Clasificación Japonesa 2010 en Cáncer Gástrico. Hacia la simplicidad y estandarización en el manejo del cáncer gástrico. *Cir Esp*. 2011; 89: 275-281.
15. López-Ríos F, Concha A, Corominas JM et al. Consenso de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) sobre la determinación de HER2 en el carcinoma gástrico. *Rev Esp Patol*. 2011; 44: 32-48.
16. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2010; 376: 687-697.
17. Bartley AN, Christ J, Fitzgibbons PL et al. Members of the Cancer Biomarker Reporting Committee, College of American Pathologists. Template for reporting results of HER2 (ERBB2) biomarker testing of specimens from patients with adenocarcinoma of the stomach or esophagogastric junction. *Arch Pathol Lab Med*. 2015; 139: 618-620.
18. Bartley A, Washington MK, Ventura CB, et al. HER2 testing and clinical decision making in gastroesophageal adenocarcinoma: guideline from the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *Am J Clin Pathol*. 2016; 146: 647-669.
19. Yasuhiro Kodera, Hayao Nakanishi, Seiji Ito, Yoshitaka Yamamura et al. Quantitative detection of disseminated cancer cells in the greater omentum of gastric carcinoma patients with real-time RT-PCR: a comparison with peritoneal lavage cytology. *Gastric Cancer* (2002) 5: 69-76.
20. K Katsuragi, M Yashiro, T Sawada et al. Prognostic impact of PCR-based identification of isolated tumour cells in the peritoneal lavage fluid of gastric cancer patients who underwent a curative R0 resection. *British Journal of Cancer*(2007) 97, 550 – 556.
21. Sylvie Lorenzen, Benjamin Panzram, Robert Rosenberg et al. Prognostic Significance of Free Peritoneal Tumor Cells in the Peritoneal Cavity Before and After Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Gastric Carcinoma Undergoing Potentially Curative Resection. *Ann Surg Oncol* (2010) 17:2733-2739.
22. James J. Mezhir, Manish A. Shah, Lindsay M. et al. Positive Peritoneal Cytology in Patients with Gastric Cancer: Natural History and Outcome of 291 Patients. *Ann Surg Oncol* DOI 10.1245/s10434-010-1183-0.
23. M. La Torre a, M. Ferri a, M.R. Giovagnoli et al. Peritoneal wash cytology in gastric carcinoma. Prognostic significance and therapeutic consequences. *EJSO* 36 (2010) 982-986.
24. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. van der Post RS, Vogelaar IP, Carneiro F et al. *J Med Genet*. 2015 Jun;52(6):361-74.
25. Familial Gastric Cancers. Setia N, Clark JW, Duda DG et al. *Oncologist*. 2015 Dec;20(12):1365-77.
26. Familial gastric cancer: guidelines for diagnosis, treatment and periodic surveillance. Kluijft I et al. *Familial Cancer* (2012) 11:363-369.

# Diagnóstico estructurado de los pólipos de colon resecados mediante polipectomía endoscópica y actitud terapéutica

## Documento de recomendaciones

Josep Antoni Bombí<sup>1</sup>, Miriam Cuatrecasas<sup>1</sup>, Mar Iglesias<sup>2</sup>, Stefania Landolfi<sup>3</sup>, Eva Musulén<sup>4</sup>, María Eugenia Semidey<sup>3</sup>, Justyna Szafranska<sup>5</sup>. Grupos de trabajo de las Sociedades Catalanas de Anatomía Patológica, Gastroenterología y Cirugía Gastrointestinal. (Por orden alfabético)

1 Hospital Clínic. Universitat de Barcelona. Barcelona

2 Hospital del Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

3 Hospital Universitari Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

4 Hospital Universitari General de Catalunya. Sant Cugat del Vallès. Universitat Internacional de Catalunya. Barcelona.

5 Hospital de Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

### I. JUSTIFICACIÓN DEL DOCUMENTO

En el contexto de un programa de cribado poblacional de cáncer colorrectal (CCR), las Sociedades Catalanas de Anatomía Patológica, Aparato Digestivo y Cirugía Gastrointestinal hemos trabajado conjuntamente para elaborar este documento, en forma de listado de verificación (*checklist*). Con ello se pretende facilitar y homogeneizar los informes de endoscopia y de anatomía patológica para el diagnóstico de los pólipos de colon y, de esta forma, obtener la información necesaria para conseguir un tratamiento y un seguimiento adecuados de los pacientes.

Está demostrado que la resección de los pólipos de colon reduce la incidencia y mortalidad por CCR. La estrategia de vigilancia post-polipectomía se basa en la estratificación de los pacientes en función del riesgo de desarrollar pólipos metacrónicos y dependerá de las características histológicas, tamaño y número de pólipos, además de la edad de presentación y los antecedentes familiares de neoplasia colorrectal.

Es esencial que endoscopistas, patólogos, cirujanos y clínicos trabajemos de forma coordinada, compartiendo la información que nos permita hacer una correcta recomendación del manejo de estos enfermos. Los informes de Anatomía Patológica son una de las herramientas clave para alcanzar este objetivo.

## II. LISTADO DE VERIFICACIÓN DEL MATERIAL E INFORMACIÓN SOBRE LA POLIPECTOMÍA, A FACILITAR POR ENDOSCOPIA DIGESTIVA AL SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

- Siempre que sea posible, cada pólipo debería ir preservado por separado en un frasco con formol.
- Los frascos deben numerarse y etiquetarse con nombre y apellidos, número de historia clínica; fecha de la endoscopia.
- Petición del estudio anatomopatológico que incluya:
  - Datos del paciente: Nombre y apellidos; número de historia clínica; fecha de obtención de la muestra; nombre del endoscopista.
  - Información del contenido de cada frasco – pólipo
    - Características macroscópicas del pólipo (sésil; pediculado; plano)
    - Localización y tamaño en mm.
    - Polipectomía / mucosectomía: en bloque o fragmentada.
    - Indicar si la recuperación es total o parcial  
(*Esta información se puede obtener del informe de la colonoscopia*)
- Identificación del margen de resección en pólipos de >10mm, siempre que sea posible (marcado con tinta, o bien colocando una aguja en el margen del tallo).

## III. LISTADO DE VERIFICACIÓN DEL CONTENIDO DEL INFORME ANATOMO-PATOLÓGICO DE LOS PÓLIPOS DE COLON

*Información reflejada en el encabezado del informe de Anatomía Patológica y se refiere a datos que adjunta el endoscopista.*

- Datos de filiación
  - Nombre y apellidos
  - Nº de historia clínica
  - Fecha de obtención de la muestra
  - Fecha del informe
  - Nº de biopsia
  - Nombre del endoscopista
- Configuración del pólipo:
  - Sésil
  - Pediculado
  - Plano
- Integridad del pólipo y procedimiento:
  - Polipectomía en bloque
  - Polipectomía fragmentada
  - Mucosectomía en un solo fragmento/en bloque
  - Mucosectomía fragmentada
  - Indicar además, si se conoce, si la recuperación del pólipo es parcial o completa
- Diámetro del pólipo en mm
- Localización anatómica del pólipo considerando la localización que se puede confirmar por colonoscopia
  - Recto
  - Recto-sigma
  - Colon a.....cm del margen anal (medido durante retirada colonoscopia)
  - Válvula ileocecal.
  - No especificada.

*Información del análisis patológico:*

- Tipo histológico del pólipo

- Adenoma tubular
- Adenoma vellosa
- Adenoma tubulovelloso
- Adenoma serrado tradicional
- Adenoma / pólipo serrado sésil
- Pólipo hamartomatoso
- Pólipo fibroide inflamatorio
- Pólipo juvenil
- Pólipo inflamatorio
- Indeterminado
- Otros (especificar)
- Displasia epitelial (neoplasia intraepitelial)
  - Bajo grado
  - Alto grado (incluye la displasia de alto grado y el carcinoma intraepitelial-in situ)
- Estado de los márgenes; especificar márgenes laterales-mucosos y profundo:
  - Ausencia de epitelio displásico (especificar la distancia al margen en mm en caso de carcinoma in situ)
  - En contacto con epitelio con displasia de bajo grado
  - En contacto con epitelio con displasia de alto grado
  - No se identifica el margen de resección
  - No valorable, pólipo recibido fragmentado / mala orientación del pólipo

#### IV. LISTADO DE VERIFICACIÓN DEL CONTENIDO DEL INFORME ANATOMO-PATOLÓGICO DEL PÓLIPO DE COLON MALIGNIZADO EXTIRPADO MEDIANTE POLIPECTOMÍA ENDOSCÓPICA

Se deberán añadir a la lista previa de verificación de los pólipos de colon la siguiente información:

- **Tamaño del pólipo (mm)**
- **Tamaño del carcinoma (mm). Esta medida es la dimensión en anchura**
- **Tipo histológico**
  - Adenocarcinoma
  - Adenocarcinoma mucinoso o coloide (>50% componente mucinoso)
  - Adenocarcinoma de células en anillo de sello (> 50%)
  - Carcinoma adenoescamoso
  - Carcinoma escamoso
  - Carcinoma medular
  - Carcinoma indiferenciado
  - Otros (especificar): \_\_\_\_\_
  - Carcinoma. No se puede determinar el tipo
- **Grado histológico**
  - Bajo grado (incluye bien y moderadamente diferenciado; formación  $\geq$  50% de glándulas.)
  - Alto grado: (incluye células en anillo de sello, célula pequeña, pobremente diferenciado o indiferenciado, formación < 50% de glándulas).
  - No se puede determinar
  - Otros: \_\_\_\_\_
- **Nivel de infiltración del adenocarcinoma para pólipos sésiles y pediculados: (Anexos 1 y 2)**

La clasificación de Haggitt en **pólipos pediculados** sólo se puede aplicar cuando el pólipo está muy bien orientado y perpendicular al eje mayor del mismo y se identifica la capa muscular propia. No es imprescindible aplicar la clasificación de Haggitt, y sólo se aplicará si es posible. **Se debe contar la invasión a partir de la línea entre la cabeza del pólipo y el tallo ("línea de Haggitt"). El tumor confinado a la cabeza del pólipo no se considera infiltrante (invasión 0  $\mu$ m).** (Basado en\*Pai RK Mod Pathol 2017)

La clasificación de Kikuchi para pólipos sesiles únicamente se puede aplicar en casos en que se identifica la totalidad de la capa submucosa, identificándose la capa muscular propia en la pieza de polipectomía.

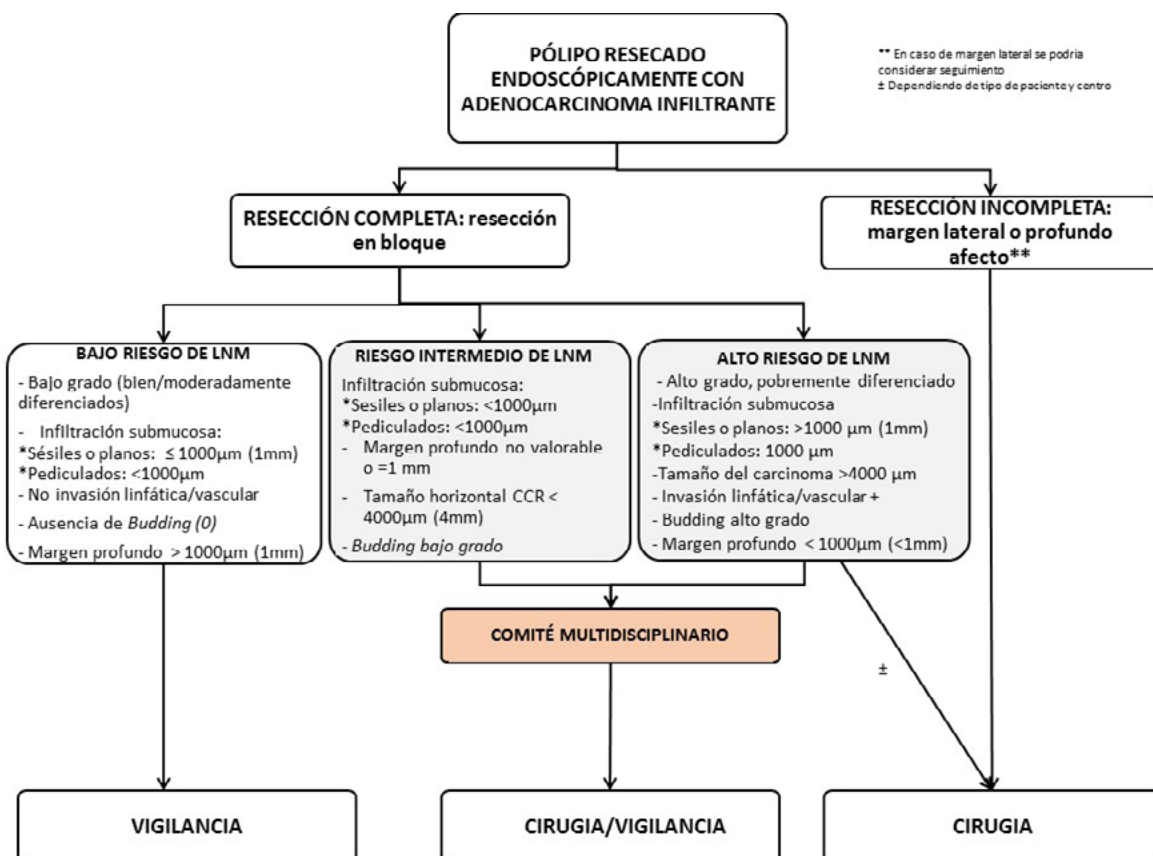
La infiltración en mm da suficiente información (Anexos 1 y 2).

- No se puede determinar
- Lámina propia sin que llegue a la submucosa, aunque infiltre focalmente la muscularis mucosae sin sobrepasarla. Carcinoma intramucoso (pTis)
- Submucosa (pT1) (especificar **la profundidad** de la invasión de submucosa en **mm**).<sup>\*</sup> ver anexo
- **Cuando se puede aplicar Haggitt en pólipos pediculados (se recomienda también poner los mm de infiltración submucosa)**
  - Limitado a la cabeza del pólipo (Haggitt 1) (pT1)
  - Extensión al cuello del pólipo (Haggitt 2) (pT1)
  - Extensión a cualquier parte del tallo (Haggitt 3) (pT1). Especificar mm infiltración.
  - Infiltra el tallo y se extiende al resto de la submucosa por encima de la muscularis propia (Haggitt 4) (pT1). Especificar mm infiltración.
- **Cuando se puede aplicar Kikuchi en pólipos sesiles (se recomienda también poner los mm de infiltración submucosa)**
  - El adenocarcinoma infiltra el tercio superficial de la submucosa (Kikuchi sm1) (pT1). Especificar mm infiltración.
  - El adenocarcinoma infiltra los dos tercios superficiales de la submucosa (Kikuchi sm2) (pT1). Especificar mm infiltración.
  - El adenocarcinoma infiltra los tres tercios de la submucosa (Kikuchi sm3) (pT1). Especificar mm infiltración.
  - Muscularis propia (pT2).
- **Invasión vascular de vasos de pequeño calibre (infiltración tumoral angiolímfática)**
  - Ausente
  - Presente
  - Indeterminada
- **Invasión perineural**
  - Ausente
  - Presente
- **Tumor budding (células tumorales aisladas o nidos de <4 células tumorales en el margen infiltrante del tumor)** (basado en <sup>\*</sup>Pai RK Mod Pathol 2017)
  - Ausente
  - Presente (escoger a aumento x10 la zona de máximo budding "hot-spot" y contar a x20)
    - Bajo grado (0 a 4 buds (células aisladas o nidos tumorales <5 células) / campo x20; ocular x10/22 (0.95 mm<sup>2</sup>))
    - Alto grado (≥5 buds (células aisladas o nidos tumorales <5 células) / campo x20; ocular x10/22 (0.95 mm<sup>2</sup>))
- **Tipo de pólipo en el que se ha originado el carcinoma**
  - Adenoma tubular
  - Adenoma vellosa
  - Adenoma tubulovellosa
  - Adenoma serrado tradicional
  - Adenoma / pólipo serrado sésil
  - Pólipo hamartomatoso
  - Indeterminado
- **Márgenes de resección laterales-mucosos y profundo**
  - No se identifica el margen de resección del pólipo (mala orientación)
  - Pólipo fragmentado que no permite determinar el estado del margen de resección (excepto si



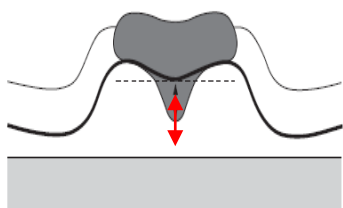
- la totalidad del carcinoma se encuentra limitado a un solo fragmento y se puede evaluar bien el margen profundo, que sería el único que se podría informar)
- El margen de resección está libre de tumor (indicar distancia al margen en mm)
  - El margen de resección contacta con epitelio con displasia de bajo grado
  - El margen de resección contacta con epitelio con displasia de alto grado
  - El carcinoma contacta con el margen de resección (especificar si lateral o profundo)
  - Distancia del tumor al margen de resección (especificar si lateral o profundo):
    - a) <1mm (especificar: .....mm)
    - b) > 1mm (especificar:...mm)
- pTNM 8a Edición 2017
    - **pTx** No se puede evaluar el tumor primario
    - **pT0** No hay signos de tumor primario
    - **pTis** Carcinoma in situ: tumor intraepitelial; adenocarcinoma in situ; displasia epitelial de alto grado; neoplasia intraepitelial de alto grado.
    - **pTis** Adenocarcinoma intramucoso (tumor que infiltra la lámina propia con o sin afectación de la muscularis mucosae, sin infiltrar la submucosa).
    - **pT1** Tumor que infiltra la submucosa.
    - **pT2**. Muscularis propia
  - **Otros hallazgos adicionales**
  - **Estudios adicionales (Anexo 4)**
    - Inmunohistoquímica de las proteínas de los genes reparadores del DNA (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)
    - Inestabilidad de microsatélites por PCR (patología molecular)
    - Estudio de mutaciones de *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* (patología molecular)
  - **Comentarios**

FIGURA 1. Actitud terapéutica a seguir según los criterios clínicos y patológicos (véase Anexo 3)



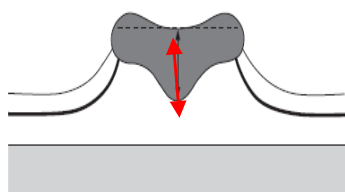
**ANEXO 1. Medición de la profundidad de infiltración de la submucosa en pólipos pediculados y sésiles.\*Pai RK Mod Pathol 2017**

**Pólipos sésiles:** Si la muscularis mucosae está intacta, medir la distancia desde la parte inferior de la muscularis mucosae hasta la porción más profunda del tumor.



Invasión > 2 mm requiere cirugía  
(1 mm en guías Japonesas)

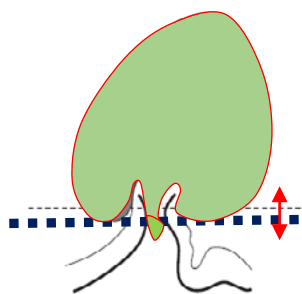
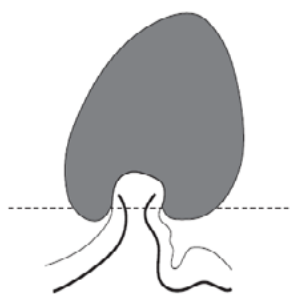
Si la muscularis mucosae está alterada por infiltración tumoral, medir la distancia desde la superficie de la lesión hasta la porción más profunda del tumor.



Invasión > 2 mm requiere cirugía  
(1 mm en guías Japonesas)

**Pólipos pediculados:** En pólipos bien orientados, debido a la irregularidad de la muscularis mucosae, la medición de la invasión es muy difícil o imposible de realizar. Se debe contar la invasión a partir de la línea entre la cabeza del pólipo y el tallo ("línea de Haggitt"). Dentro de la cabeza del pólipo, no hay invasión (0  $\mu$ m). Se mide la invasión del tallo en mm.

Realizar una línea entre la cabeza y el tallo del pólipo (suele ser donde cambia epitelio displásico a normal)

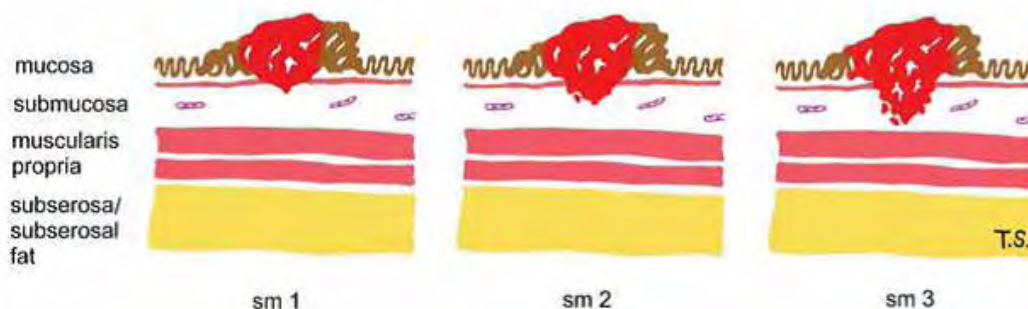


Distancia de la invasión del tallo en mm desde la ---"línea de Haggitt"

**ANEXO 2.- Clasificación de Kikuchi y de Ueno (para pólipos sésiles) y Clasificación de Haggitt (para pólipos pediculados) para evaluar la infiltración submucosa por adenocarcinoma**

**Clasificación de Kikuchi** para evaluar la infiltración submucosa del adenocarcinoma de tumores planos no pediculados.

Ésta clasificación únicamente se puede aplicar en casos en que se identifica la totalidad de la capa submucosa, identificándose la capa muscular propia en la pieza de polipectomía. (Kikuchi R, et al. Dis Colon Rectum 1995; 38:1286-95).

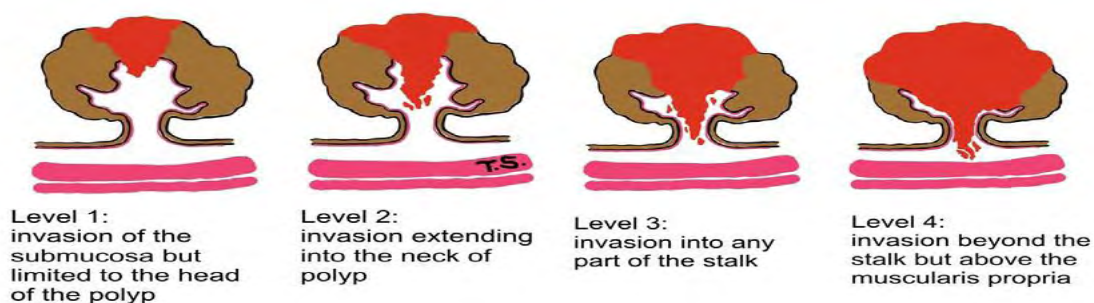


- El adenocarcinoma infiltra el tercio superficial de la submucosa (Kikuchi sm1) (pT1)
- El adenocarcinoma infiltra los dos tercios superficiales de la submucosa (Kikuchi sm2) (pT1)
- El adenocarcinoma infiltra los tres tercios de la submucosa (Kikuchi sm3) (pT1)

**Clasificación Ueno** para evaluar la infiltración submucosa cuando no se dispone de la totalidad de la capa submucosa en la polipectomía (Gastroenterology. 2004; 127:385-94.)

- El adenocarcinoma infiltra la muscularis mucosae y penetra menos de 2000 µm la submucosa (pT1) (bajo riesgo de metástasis ganglionar (2,5%))
- El adenocarcinoma infiltra la muscularis mucosae y penetra más de 2000 µm la submucosa (pT1) (alto riesgo de metástasis ganglionar (18,2%))

**Clasificación de Haggitt** para evaluar la infiltración submucosa por el adenocarcinoma en lesiones pediculadas (siempre que se identifique la totalidad de la capa submucosa) (Haggitt RC, et al. Gastroenterology 1985; 89: 328-36). Únicamente se utilizará en casos muy concretos en los que el pólipo esté muy bien orientado y cortado perpendicularmente al tallo.



El adenocarcinoma infiltra la submucosa (pT1):

- Infiltración submucosa limitada a la cabeza del pólipo (Haggitt 1) (pT1)
- Infiltración submucosa limitada al cuello del pólipo (Haggitt 2) (pT1)
- Infiltración submucosa con extensión a cualquier parte del tallo (Haggitt 3) (pT1)
- Infiltración del tallo con extensión al resto de la submucosa por encima de la muscularis propia (Haggitt 4) (pT1).

### ANEXO 3: ESTRATIFICACIÓN POR GRUPOS DE RIESGO DE LOS PÓLIPOS COLORECTALES CON ADENOCARCINOMA INFILTRANTE RESECADOS COMPLETAMENTE-EN BLOQUE.

#### ALTO RIESGO DE METÁSTASIS GANGLIONAR; CRITERIOS DE MAL PRONÓSTICO

- Alto grado, pobremente diferenciado
- Tamaño del carcinoma > 4000  $\mu\text{m}$
- Grado de infiltración de la submucosa
  - **En pólipos planos y sésiles:** infiltración de la submucosa >1.000 $\mu\text{m}$  en profundidad o más de 4.000  $\mu\text{m}$  de ancho.
  - **En pólipos pediculados:** si el foco de adenocarcinoma se extiende/infiltra por debajo de la "línea de Haggitt" >1000  $\mu\text{m}$
- Invasión linfática/vascular
- Budding de alto grado (escoger a aumento x10 la zona de máximo budding "hot-spot" y contar a x20) ( $\geq 5$  buds (células aisladas o nidos tumorales <5 células) / campo x20; ocular x10/22 (0.95  $\text{mm}^2$ ))
- Margen profundo < 1000 $\mu\text{m}$  (1mm)

#### RIESGO INTERMEDIO DE METÁSTASIS GANGLIONAR. CRITERIOS DE PRONÓSTICO INTERMEDIO

- Profundidad de invasión submucosa:
  - **Pólipos sésiles o planos:** infiltración submucosa <1000  $\mu\text{m}$  (<1 mm)
  - **Pólipos pediculados:** si el foco de adenocarcinoma se extiende/infiltra por debajo de la "línea de Haggitt" <1000  $\mu\text{m}$
- Margen profundo no valorable o =1 mm
- Tamaño CCR < 4000 $\mu\text{m}$  (4mm)
- Budding bajo grado (escoger a aumento x10 la zona de máximo budding "hot-spot" y contar a x20; 0 a 4 buds (células aisladas o nidos tumorales <5 células) / campo x20; ocular x10/22 (0.95  $\text{mm}^2$ ))

#### BAJO RIESGO DE METÁSTASIS GANGLIONAR. CRITERIOS BUEN PRONÓSTICO

- Tumores de bajo grado histológico (bien/moderadamente diferenciados)
- Profundidad de invasión submucosa:
  - **Pólipos sésiles o planos:** infiltración submucosa  $\leq$  1000 $\mu\text{m}$  (1mm)
- Pólipos pediculados: si el foco de adenocarcinoma se extiende/infiltra por debajo de la "línea de Haggitt" <1000  $\mu\text{m}$  Ausencia de invasión vascular/linfática
  - Ausencia de Budding (0)
  - Margen profundo  $\geq$  1000 $\mu\text{m}$  (1mm)

#### ANEXO 4. ESTUDIOS ADICIONALES

**Inestabilidad de microsatélites** (especificar método de análisis: \_\_\_\_\_)

- Estable (MSS)
- Baja (MSI-L)
- Alta (MSI-H)

#### Estudio inmunohistoquímico de las proteínas reparadoras del DNA

##### MLH1

- Positividad nuclear intacta en células tumorales (normal)
- Pérdida de positividad en células tumorales
- Pendiente
- Otros (especificar): \_\_\_\_\_

##### MSH2

- Positividad nuclear intacta en células tumorales (normal)
- Pérdida de positividad en células tumorales
- Pendiente
- Otros (especificar): \_\_\_\_\_

##### MSH6

- Positividad nuclear intacta en células tumorales (normal)
- Pérdida de positividad en células tumorales
- Pendiente
- Otros (especificar): \_\_\_\_\_

##### PMS2

- Positividad nuclear intacta en células tumorales (normal)
- Pérdida de positividad en células tumorales
- Pendiente
- Otros (especificar): \_\_\_\_\_

## Bibliografía

1. Castells A, Marzo-Castillejo M, Mascort JJ, et al. Prevención del cáncer colorrectal. Actualización 2009. *Gastroenterol Hepatol* 2009; 32:717.e1-717.e58.
2. Mahul B. Amin. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th edition. American Joint Committee on Cancer 2017. Springer.
3. Pai RK, Chen Y, Jakubowski MA, et al. Colorectal carcinomas with submucosal invasion (pT1): analysis of histopathological and molecular factors predicting lymph node metastasis. *Modern Pathology* 2017; 30, 113–122.
4. Koelzer VH, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in colorectal cancer—ready for diagnostic practice?. *Human Pathology* 2016; 47, 4–19.
5. Toh EW, Brown P, Morris E, et al. Area of submucosal invasion and width of invasion predicts lymph node metastasis in pT1 colorectal cancers. *Dis Colon & Rectum*. 2015; 58:4
6. Haggitt RC, Glotzbach RE, Soffer EE, Wruble LD. Prognostic factors in colorectal carcinomas arising in adenomas: implications for lesions removed by endoscopic polypectomy. *Gastroenterology*. 1985 Aug;89(2):328-36.
7. Kikuchi R, Takano M, Takagi K, Fujimoto N, Nozaki R, Fujiyoshi T, Uchida Y. Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines. *Dis Colon Rectum*. 1995 Dec;38(12):1286-95.
8. Williams JG, Pullan RD, Hill J, Horgan PG, Salmo E, Buchanan GN, Rasheed S, McGee SG, Haboubi N. Management of the malignant colorectal polyp: ACPGBI position statement. *Colorectal Dis*. 2013 Aug;15 Suppl 2:1-38.
9. Beaton C, Twine CP, Williams GL, Radcliffe AG. Systematic review and meta-analysis of histopathological factors influencing the risk of lymph node metastasis in early colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2013 Jul;15(7):788-97. doi: 10.1111/codi.12129.
10. NCCN clinical practice guidelines in oncology. Colon cancer. Version 3.2013
11. O'Brien MJ, Winawer SJ, Grahan A, et al. The National Polyp Study. Patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology* 1990; 98:371-379.
12. Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y. Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. *Gastroenterology*. 2004 Aug;127(2):385-94.
13. Washington MK, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK, Fitzgibbons PL, Halling K, Frankel W, Jessup J, Kakar S, Minsky B, Nakhleh R, Compton CC; Members of the Cancer Committee, College of American Pathologists. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Arch Pathol Lab Med*. 2009 Oct;133(10):1539-51.
14. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th edition. American Joint Committee on Cancer 2017. Springer.
15. Mitrovic B, Schaeffer DV, Riddell RH, Kirsch R. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Modern Pathology* 2012; 25, 1315–1325.

16. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. *British Journal of Cancer* 2012; 106, 1713–1717.
17. Nakadoi K, Oka S, Tanaka S, et al. Condition of muscularis mucosae is a risk factor for lymph node metastasis in T1 colorectal carcinoma. *Surg Endosc.* 2014; 28:1269-1276
18. Saitoh Y, Inaba Y, Sasaki T, et al. Management of colorectal T1 carcinoma treated by endoscopic resection. *Digestive Endoscopy* 2015;
19. Nishida T, Egashira Y, Akutagawa H, et al. Predictors of lymph node metastasis in T1 colorectal carcinoma. An immunophenotypic analysis of 265 patients. *Diseases of the colon & rectum.* 2014; 57:8
20. J. H. Suh, K. S. Han, B. C. Kim, C.W. Hong, D. K. Sohn, H. J. Chang, M. J. Kim, S. C. Park, J.W. Park, H. S. Choi, J. H. Oh. Predictors for lymph node metastasis in T1 colorectal cancer. *Endoscopy* 2012; 44: 590–595
21. R. J. C. Steele, C. Pox, E. J. Kuipers, G. Minoli, R. Lambert. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition. Management of lesions detected in colorectal cancer screening. *Endoscopy* 2012; 44: SE140–SE150
22. Nakadoi K, Tanaka S, Kanao H, Terasaki M, Takata S, Oka S, Yoshida S, Arihiro K, Chayama K. Management of T1 colorectal carcinoma with special reference to criteria for curative endoscopic resection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2012; 27: 1057–1062
23. Saitoh Y, Inaba Y, Sasaki T, Sugiyama R, Sukegawa R, Fujiya M. Management of colorectal T1 carcinoma treated by endoscopic resection. *Dig Endosc.* 2016; 28:324-9.





# Recomendaciones para el diagnóstico anatomopatológico del cáncer de colon

M<sup>a</sup> Jesús Fernández Aceñero<sup>1</sup>, Rebeca Fernández Victoria<sup>2</sup>, Elvira González Obeso<sup>3</sup>, Carolina Martínez Ciarpaglini<sup>4</sup>, Jordi Tarragona<sup>5</sup>. (Por orden alfabético)

1. Sección de Patología Digestiva. Hospital Clínico San Carlos, Madrid
2. Servicio Anatomía Patológica. Hospital Alvaro Cunqueiro. Xerencia de Xestión Integrada de Vigo
3. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario de Valladolid
4. Fundación de investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia (INCLIVA). Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario de Valencia
5. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida

## I. INTRODUCCIÓN

**Elvira González Obeso.**

Desde el Club de Digestivo de la SEAP os presentamos este capítulo de Cáncer de Colon con el propósito de que os sirva de ayuda a la hora de enfrentaros a una pieza de resección de intestino grueso. Hemos recogido los datos que consideramos más relevantes, apoyándonos en la literatura internacional y bajo el punto de vista de nuestra experiencia. Confiamos en que os resulte práctica y sea una guía de referencia a la que acudáis para consultas. Esperamos mantenerla actualizada en años venideros. Quiero agradecer la colaboración de los autores de este capítulo destacando su dedicación, disponibilidad y capacidad de trabajo a la hora de confeccionar esta guía.

## II. CONSIDERACIONES GENERALES.

**Jordi Tarragona**

El proceso maligno más frecuente del tubo digestivo es el adenocarcinoma colorrectal, responsable de aproximadamente el 10% de todas las muertes por cáncer. Epidemiológicamente representa el tercer tumor maligno en incidencia y en mortalidad, tanto en mujeres como en hombres. La incidencia está altamente relacionada con el estilo de vida, especialmente con los hábitos alimentarios. Según la Asociación Española contra el Cáncer en España se diagnostican unos 22.000 casos anuales, lo que representa el 12,7% de los tumores del sexo masculino (12.500 casos) y el 15% de los femeninos (9.500 casos). Estas cifras van en aumento, especialmente desde que se han puesto en marcha los programas de cribado con detección precoz de tumor en estadios iniciales.

El objetivo principal de este capítulo es proporcionar una guía útil para el manejo de las piezas oncológicas que conciernen a patología colorrectal. El avance en la investigación en esta área de la patología aporta nuevos

marcadores con potencial diagnóstico, pronóstico y predictivo de respuesta a terapias biológicas dirigidas. El patólogo que se dedique al campo de la patología digestiva debería conocer y participar en estos avances, así como incorporar en la práctica diaria los marcadores que sean válidos en el ámbito clínico. Como en muchas otras especialidades, aunque el tratamiento y el pronóstico del cáncer colorrectal dependen del diagnóstico histopatológico con la ayuda de estudios inmunohistoquímicos y moleculares, las decisiones de terapia individualizada para cada paciente deben tomarse en comités multidisciplinares. En dichos comités, aparte de valorarse los datos patológicos, se van a tener en cuenta datos clínicos, quirúrgicos y radiológicos. Es necesario que un patólogo especializado en patología digestiva participe como miembro fundamental en estos comités.

El informe anatomopatológico del cáncer colorrectal debe ser preciso y completo ya que muchos criterios incluidos en éste afectan a la estadificación y al pronóstico, influyendo directamente en la toma de decisiones. Este informe debe de ser adaptado por los patólogos según su práctica individual o institucional, de acuerdo a los medios disponibles, aunque sí que entendemos que deben constar unos mínimos recomendables en cada informe.

Nuestras recomendaciones se centran en ocho aspectos fundamentales: información diagnóstica, protocolo macroscópico, protocolo microscópico, diagnóstico, datos moleculares, estudios de herencia, estudios relacionados con el cribado de cáncer colorrectal y criterios de calidad del informe anatomopatológico. A todos los lectores les deseamos que estas guías prácticas les sean útiles para enfocar mejor la patología oncológica colorrectal.

### III. INFORMACIÓN DIAGNÓSTICA.

Jordi Tarragona

A continuación pasaremos a enumerar los datos mínimos que deberían proporcionarse por parte de los cirujanos junto a las piezas de resección quirúrgica. Aunque con los actuales sistemas informáticos se ha aumentado mucho la facilidad de acceso a la historia clínica de los pacientes por parte de los patólogos, creemos que en la petición del estudio anatomopatológico de las piezas quirúrgicas de cáncer colorrectal deben constar un mínimo de datos clínicos con el fin de poner en contexto al paciente y poder realizar una adecuada correlación clínico-radiológica que, posteriormente, puede exponerse en los comités multidisciplinares. Estos datos son los siguientes:

#### 1. Tipo de procedimiento quirúrgico

- Hemicolectomía derecha.
- Hemicolectomía izquierda.
- Resección segmentaria de colon (ascendente, descendente o transversal).
- Sigmoidectomía.
- Resección anterior alta de recto.
- Resección anterior baja de recto.
- Intervención de Hartmann.
- Amputación abdomino-perineal (Intervención de Miles).
- Resecciones locales transanales: TEM o TAMIS.
- Otras, entre ellas intervenciones quirúrgicas de tipo paliativo.

#### 2. Estudio histológico previo del tumor

En caso de cirugía electiva debe constar el diagnóstico de la biopsia previa, realizada en nuestro centro o, si se realizó en otro centro, debería constar el resultado de la misma.

Solamente aquellos casos con intervención quirúrgica de urgencia debido a complicaciones del tumor (oclusión, hemorragia, etc.) es posible que no tengan asociada una biopsia previa si dicha complicación representa el debut clínico del tumor.

Es de especial interés tener la referencia de la biopsia previa en los tumores de recto con tratamiento neoadyuvante, ya que en casos de remisión completa del tumor podría ser la única representación de tejido tumoral en previsión de que necesitemos hacer otro tipo de estudios.

En este apartado también podríamos incluir lo referente a los datos del **estudio endoscópico** de la tumoración. El informe endoscópico del digestólogo que ha hecho la biopsia nos informará de la distancia a que se encuentra la lesión, así como el aspecto macroscópico endoscópico de la misma: tamaño, forma, presencia de ulceración, signos de sangrado, etc., incluso datos clínicos como la presencia de posibles antecedentes familiares en caso de sospecha de una forma familiar de cáncer.

### 3. Estudio radiológico previo del tumor

En cualquiera de los tipos de pieza quirúrgica debería acompañarse el resultado del informe radiológico con el rTNM que, sobre todo en casos de tumores rectales, consistirá en un estudio por Resonancia Magnética (RMN) en el que consta el nivel de infiltración de la pared, si hay o no afectación ganglionar y la distancia a la fascia mesorrectal. Asimismo es importante hacer constar si, a través de TAC, se ha realizado un estudio de extensión al paciente con el fin de descartar enfermedad a distancia, especialmente metástasis hepáticas y/o pulmonares.

Es de especial interés tener la referencia del estudio radiológico en los tumores de recto con tratamiento neoadyuvante ya que, en casos de remisión completa del tumor, podría ser la única referencia del nivel de infiltración previo y de la presencia o no de afectación ganglionar.

### 4. Tratamiento neoadyuvante

Muchos de los tumores localizados en recto han recibido tratamiento oncológico previo a la intervención. Debe constar, si es así, el tipo de tratamiento recibido (tratamiento convencional con quimioterapia-radioterapia o ciclo corto de radioterapia) y la fecha de finalización del mismo.

También resultaría interesante que se reseñase si no ha sido tratado, para evitar posibles confusiones.

### 5. Orientación de la lesión

En casos de microcirugía transanal (TEM) o cirugía transanal mínimamente invasiva (TAMIS) es conveniente que la pieza quirúrgica sea remitida debidamente orientada en cuanto a margen distal, margen proximal, márgenes laterales y margen profundo, a fin de poder hacer una buena reconstrucción espacial y poder dar una correcta información de los márgenes afectos en caso de que lo estuvieran.

Resulta de gran ayuda el recibirla clavada con alfileres sobre un fragmento de poliespan o corcho desde quirófano y, si esto no fuera posible, clavarla debidamente orientada una vez recibida en fresco en el Servicio de Anatomía Patológica.

### 6. Datos quirúrgicos con interés anatomopatológico

En este apartado deben constar las incidencias o aquellos aspectos relacionados con la intervención quirúrgica que el patólogo encargado del estudio de la pieza debe conocer. Son datos relativos a posible perforación yatrogénica de la pared del colon, ampliación de colectomía en casos de márgenes dudosos, dificultades de la cirugía en tumores de recto con tratamiento neoadyuvante (especialmente lo relacionado con la exéresis del mesorrecto), reconversión de la cirugía laparoscópica en cirugía abierta, así como otros hallazgos encontrados durante la intervención.

### 7. Decisiones del comité interdisciplinario

En aquellos casos que se han presentado en comité es interesante conocer la decisión que se ha tomado para ponerla en el contexto clínico del paciente ya que, en ocasiones se han tenido que tomar medidas que no se corresponden con las guías oncológicas.

**Bibliografía**

1. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. International Agency of Research on Cancer. Lyon, 2010.
2. Codina A, Espín E, Biondo S et al. Audited teaching program for the treatment of rectal cancer in Spain: results of the first year. *Cir Esp*2007;82:209-13.
3. Croner RS, Merkel S, Papadopoulos T, et al: Multivisceral resection for colon carcinoma. *Dis Colon Rectum*2009;52:1381-6.
4. van Gijn W, van den Brock CB, Mroczkowski P et al. The EURECCA project: data items scored by European colorectal cancer audit registries. *Eur J Surg Oncol*2012;38:467-71.
5. Lee JK, Delaney CP, Lipman JM: Current state of the art in laparoscopic colorectal surgery for cancer: Update on the multi-centric international trials. *Ann Surg Innov Res*2012;6(1):5.
6. Ortiz H, Wibe A, Ciga MA, Lujan J, Codina A, Biondo S. Impact of a multidisciplinary team training programme on rectal cancer outcomes in Spain. *Colorectal Dis*2013;15(5):544-51.
7. Ruiz López P, Alcalde J, Rodríguez-Cuéllar E, Landa I, Jaurrieta E, Proyecto nacional para la gestión clínica de procesos asistenciales. Tratamiento quirúrgico del cáncer colorrectal. I. Aspectos generales. *Cir Esp*2002;71:173-80.
8. Wibe A, Eriksen MT, Syse A, Tretli S, Myrvold HE, Søreide O, Norwegian Rectal Cancer Group. Effect of hospital caseload on long-term outcome after standardization of rectal cancer surgery at a national level. *Br J Surg*2005;92:217-24.
9. Wolf B, Fleshman JW, Beck DE, Pemberton JH, Wexner SD. The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery. New York, Springer 2007.

**IV. ESTUDIO MACROSCÓPICO.****Elvira González Obeso**

1. A la hora de realizar el estudio macroscópico de la pieza quirúrgica de colon o recto, lo ideal es recibirla en fresco. Además resultaría muy conveniente que el cirujano marque con sedas la o las raíces vasculares (arteria ileocecoapendicular, cólica derecha, cólica media, cólica izquierda, sigmoidea y rectal). También el margen quirúrgico distal, sobre todo en las piezas de resección de colon descendente-sigma donde la anatomía no permite orientar la pieza fácilmente como si ocurre en las piezas de colon ascendente y recto. Por último debería marcar con una seda todas aquellas estructuras que se resequen junto con el segmento de intestino grueso, por ejemplo: un segmento de conducto deferente, de uréter, de próstata, de vejiga, de vagina...

Si no es posible recibirla en fresco, debe estar contenida en un recipiente cubierta por abundante formol para realizar el estudio post-fijación. Otra posibilidad, es guardar la pieza en un recipiente hermético a 4º hasta un máximo de 24 h, para poder realizar el estudio macroscópico previo a la fijación. En cualquier caso, la pieza debe estar fijándose un máximo de 48 h, en piezas grandes es conveniente realizar un corte transversal en la zona de máximo espesor del tumor para facilitar su fijación.

2. Una vez extraída del envase, tanto si viene en fresco como si está fijada en formol, se debe realizar el estudio macroscópico de la misma comprobando la integridad de los márgenes quirúrgicos proximal, distal y radial-circunferencial. Este último margen implica la observación cuidadosa del estado de la superficie serosa de la pieza así como el estado de la superficie no cubierta por peritoneo. La porción retroperitoneal más fácil de reconocer es el mesorrecto en las piezas de resección anterior baja y de amputaciones abdominoperineales, pero también existe una porción retroperitoneal en el resto de segmentos del colon. Tras la realización del estudio Vikingo la integridad del mesorrecto se evalúa como íntegro, parcialmente íntegro –si existen soluciones de continuidad o disrupciones en la superficie mayores de 5 mm de profundidad- e insatisfactorio –cuando la solución de continuidad alcanza la capa muscular propia-. También debe reflejarse la presencia de otras estructuras (segmento de intestino, deferente, uréter, próstata, vejiga, vagina...).

En el caso de las piezas de amputación abdominoperineal es necesario reflejar el estado de los esfínteres de la región anal, es decir, valorar el grado de integridad de la resección de los mismos para lo cual es necesario saber qué tipo de procedimiento quirúrgico se ha llevado a cabo (resección interesfinteriana u otro tipo). La calidad de resección del canal anal se califica como satisfactoria (sin disrupciones, realizada en el plano extraelevador), parcialmente satisfactoria (presenta disrupciones, realizada en el plano esfinteriano) e insatisfactoria (realizada en el plano intraesfintérico alcanzando (o no) la submucosa o con presencia de perforación).

Hechas todas estas observaciones se debe anotar la longitud total de la pieza, el estado de la superficie peritoneal, medidas y estado de los márgenes proximal, distal y radial-circunferencial, describir todas aquellas estructuras en relación con la pieza que se remitan (apéndice ileocecal, deferente, uréter, próstata, vejiga...).

En la medida de lo posible conviene realizar fotografías de las piezas macroscópicas: pieza sin abrir, centrada en el mesorrecto en las piezas de resección de recto, pieza abierta y cortes transversales en las zonas de espesor máximo.

3. El siguiente paso a seguir sería retirar con cuidado las suturas de grapas de los extremos proximal y distal de la pieza remitida y proceder a la apertura de la luz de la misma cortando por el borde antimesentérico para exponer la mucosa. Algunas excepciones a este paso serían: 1) Piezas de resección que incluyan recto: conviene pintar con tinta la superficie mesorrectal (una vez valorada su integridad) para seguidamente retirar ambas suturas de los extremos y abrir por la cara antimesentérica hasta llegar aproximadamente a 2 cm de la reflexión peritoneal y no abrir más, dejando el mesorrecto íntegro en su cara posterior y la cara anterior también. Se colocaría papel humedecido en formol en la luz del recto para facilitar la fijación. 2) Tumores que ocupan el 100% de la luz del intestino: se debería abrir la pieza por el borde antimesentérico dejando 1 cm en sentido proximal y 1 cm en sentido distal. De esta manera se podrá valorar íntegramente el borde radial-circunferencial de la pieza en su cara antimesentérica con más facilidad.
4. El estudio macroscópico de la mucosa se podrá realizar una vez retirado todo el contenido intestinal, inicialmente arrastrándolo con la mano o con ayuda de un instrumento y luego bajo agua con delicadeza para no dañar la mucosa.

En primer lugar se localizará el tumor, tomando medidas de su longitud, del porcentaje de luz que ocupa, dejando la medida del espesor máximo de infiltración para el momento de tallado postfijación.

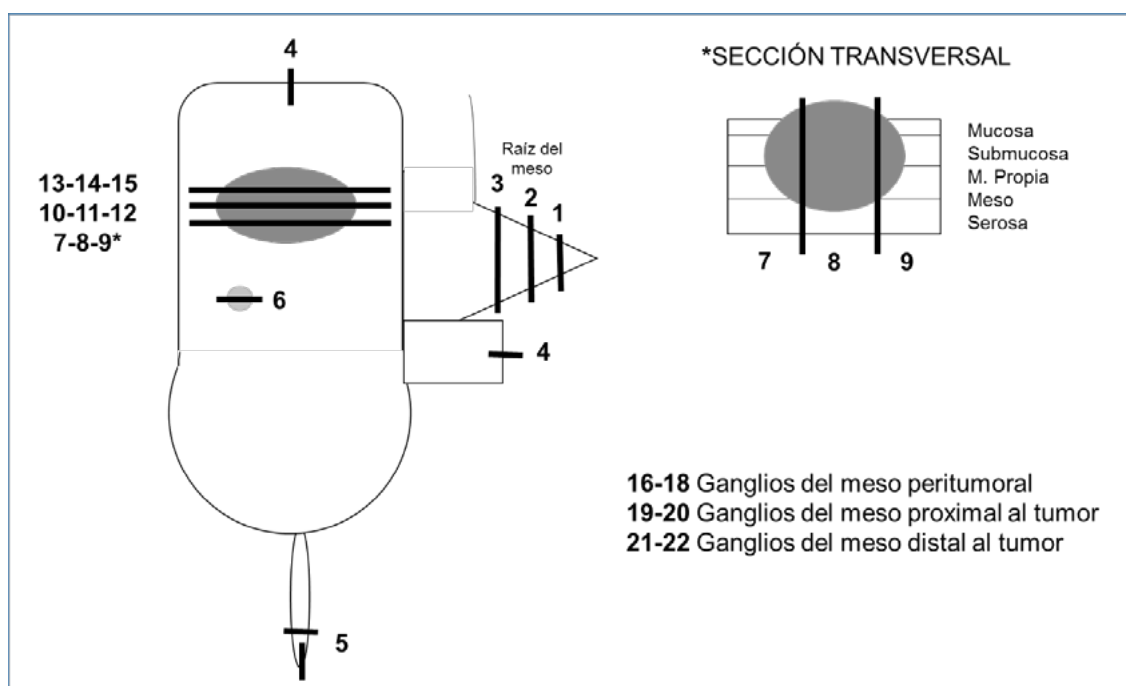
Se reflejará la distancia del tumor al borde quirúrgico más próximo. Una distancia macroscópica menor de 1 cm compromete el margen. Si bien los cirujanos suelen argumentar que a la medida de distancia que se da en la pieza se le deben añadir 2-3 mm de segmento de intestino grapado con la sutura mecánica y los 6-8 mm más del rodete de anastomosis. En cualquier caso la medida realizada sobre la pieza quirúrgica es un valor objetivo, si bien el estado real del margen quirúrgico se constatará en el informe microscópico. En las piezas de resección de recto es importante reflejar la distancia del tumor a la reflexión peritoneal.

Una vez descrito el tumor se debe observar minuciosamente el estado de la restante mucosa de la pieza quirúrgica buscando otras lesiones como tumores sincrónicos, pólipos, lipomas, angiomas, cuerpo extraño impactado... Éstas se medirán y se localizarán respecto al margen quirúrgico más próximo. También se buscarán soluciones de continuidad (perforaciones) en la pieza localizándolas respecto al tumor, ya que si el tumor está perforado el estadiaje cambia.

Consideración aparte merecen las piezas quirúrgicas de resección realizadas para completar estadiaje tras el diagnóstico de adenocarcinoma de colon en estadio pT1 sobre adenoma tubular o túbulo-velloso. Tras la realización de la polipectomía suele existir una escara, de mayor o menor tamaño, en la zona de implantación del pólipo que el endoscopista ha marcado, previamente a la cirugía, con tinta proximal y/o distal en 2 o en los 4 cuadrantes de la pieza. Cuando recibimos la pieza quirúrgica, preferiblemente en fresco, debemos buscar las marcas de tinta que a veces han migrado desde la pared de la pieza a la grasa del meso, cosa que ocurre pasados 15-20 días tras el marcaje endoscópico.

Al abrir la pieza debemos intentar no seccionar la escara de la base de implantación. Para localizarla se puede palpar cuidadosamente la mucosa entre las marcas de tinta y al abrir la pieza evitar cortarla. Una vez abierta, se mide la distancia de la escara al margen quirúrgico más próximo. Se puede considerar la posibilidad de clavar la pieza en un corcho de poliespan (u otro material de embalaje que lo permita) de forma que quede plana para una adecuada fijación y un posterior tallado más fácil. Es importante estudiar si queda tumor en la pieza ya que el estadiaje del tumor podría cambiar, por mayor infiltración en profundidad o por existir ganglios metastásicos.

5. Hecho el estudio y la descripción macroscópica se debe sumergir la pieza (clavada o no en poliespan) en un recipiente con formaldehído al 4% (estabilizado o no con etanol al 1%) asegurándonos de que queda completamente cubierta y que está lo más extendida posible. De esta forma se reducen los artefactos provocados por la fijación y es más fácil de tallar una vez fijada.
6. Transcurrido el tiempo de fijación, mínimo 24 h, hasta un máximo de 72 h, se extrae la pieza y se lava con abundante agua para aclarar el formaldehído (en ocasiones también puede resultar útil dejarla sumergida en agua durante una hora antes de tallarla) y se la seca, de esta forma se disminuye notablemente el nivel de formaldehído. Si la pieza es muy grande podría requerir un tiempo adicional de fijación, una vez tallada podría dejarse 24 h más fijándose en los bloques.



El tallado de la pieza tiene como objetivo realizar la selección de muestras para estudio histológico. Una buena opción es realizar un esquema de la pieza y marcar sobre éste las muestras que se incluyen en cada cápsula. En la figura se muestra el ejemplo de una pieza de hemicolectomía derecha que presenta un tumor en colon ascendente y un lipoma proximal a dicho tumor:

Se tomarían las siguientes muestras:

- Extremo proximal de la raíz de la arteria ileocecoapendicular (bloque 1)
- Ganglios intermedios de la raíz de la arteria ileocecoapendicular (bloques 2 y 3)
- Márgenes proximal y distal de la pieza (4)
- Apéndice ileocecal (5)
- Lipoma submucoso (6)
- Secciones seriadas transversales del tumor perpendiculares a la luz de proximal a distal (7-9, 10-12, 13-15). Estas secciones permiten valorar el borde quirúrgico radial-circunferencial sin dificultad. Además deben corresponder a zonas de máxima infiltración del tumor, zonas con distinto aspecto macroscópico (áreas con moco, áreas sólidas...), se deben tomar muestras del tumor suficientes como para garantizar el estudio histológico, inmunohistoquímico (de proteínas reparadoras del ADN, por ejemplo) y molecular (RAS, BRAF, inestabilidad de microsatélites...).
- Ganglios del meso peritumoral (16-18)
- Ganglios del meso del segmento de intestino proximal al tumor (19-20)
- Ganglios del meso del segmento de intestino distal al tumor (21-22).

## Bibliografía

1. Protocolo del CAP (enero de 2016): <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribucion%20Folders/WebContent/pdf/cp-colon-16protocol-3400.pdf>
2. Protocolos del RCPATH: [http://www.rcpath.org/Resources/RCPATH/Migrated%20Resources/Documents/G/G049\\_ColorectalDataset\\_July14.pdf](http://www.rcpath.org/Resources/RCPATH/Migrated%20Resources/Documents/G/G049_ColorectalDataset_July14.pdf)
3. Vía clínica de la Cirugía programada para el Cáncer Colorrectal de la AEC: [http://www.aecirujanos.es/images/stories/recursos/secciones/gestion\\_calidad/2015/via\\_clinica%20cirugia\\_carcinoma\\_colorrectal.pdf](http://www.aecirujanos.es/images/stories/recursos/secciones/gestion_calidad/2015/via_clinica%20cirugia_carcinoma_colorrectal.pdf)
4. Protocolos del NICE: <http://www.nice.org.uk/guidance/cg131/resources/guidance-colorectal-cancer-pdf>  
<http://www.nice.org.uk/guidance/cg131/evidence/cg131-colorectal-cancer-guideline-addendum2>
5. Quirke P, Cuvelier C, Ensari A, Glimelius B, Laurberg S, Ortiz H, Piard F, Punt CJ, Glenthøj A, Penninckx F, Seymour M, Valentini V, Williams G, Nagtegaal ID. Evidence-based medicine: the time has come to set standards for staging. *J Pathol* 2010; 221(4):357-60.
6. Definiciones del Proyecto Vikingo de la AEC: [http://www.aecirujanos.es/images/stories/recursos/secciones/coloproctologia/2015/proyecto\\_vikingo/documentos/definiciones\\_proyecto\\_vikingo.pdf](http://www.aecirujanos.es/images/stories/recursos/secciones/coloproctologia/2015/proyecto_vikingo/documentos/definiciones_proyecto_vikingo.pdf)
7. Denham LJ, Kerstetter JC, Herrmann TC. The complexity of the count: considerations regarding lymph node evaluation in colorectal carcinoma. *J Gastrointest Oncol* 2012;3(4):342-352.
8. Li Destri G, di Carlo I, Scilletta C, Scilletta B, Puleo S. Colorectal cancer and lymph nodes: The obsession with the number 12. *World J Gastroenterol* 2014; 20(8): 1951-1960.
9. Frasson M, Faus C, Garcia-Granero A, Puga R, Flor-Lorente B, Cervantes A, Navarro S, Garcia-Granero E. Pathological evaluation of mesocolic resection quality and ex vivo methylene blue injec-



tion: what is the impact on lymph node harvest after colon resection for cancer? *Dis Colon Rectum* 2012;55(2):197-204.

10. Cserni G, Tarjan M, Bori R. Distance of lymph nodes from the tumor. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:246-249.

## V. ESTUDIO MICROSCÓPICO.

Rebeca Fernández Victoria

La presión asistencial a la que estamos sometidos y la utilización de protocolos para la realización de los informes ha reducido el apartado de informe microscópico en favor de una descripción macroscópica y un diagnóstico más amplios. Sin embargo, es necesario conocer ciertos aspectos microscópicos para poder analizarlos y plasmarlos adecuadamente en el informe.

A. La OMS recomienda clasificar los tumores en 10 tipos histológicos:

- Adenocarcinoma
- Adenocarcinoma mucinoso (coloide) -50% o más mucinoso-
- Carcinoma con células en anillo de sello -50% o más compuesto por células en anillo de sello-
- Carcinoma escamoso
- Carcinoma adenoescamoso
- Carcinoma medular
- Adenocarcinoma comedo-cribiforme, micropapilar, serrado o de células fusiformes
- Carcinoma neuroendocrino, que a su vez se divide en función del tamaño de las células grandes o pequeñas.
- Carcinoma mixto adeno-neuroendocrino
- Carcinoma indiferenciado

Por convención, el carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma de células pequeñas y los carcinomas indiferenciados son de alto grado. Los únicos tipos histológicos que se ha visto que tienen significado pronóstico adverso independientemente del estadio, son los de células en anillo de sello y los neuroendocrinos de células pequeñas.

El carcinoma medular es un tipo histológico fuertemente asociado a altos niveles de inestabilidad de microsatélites (MSI-H), Puede ocurrir o de forma esporádica o asociado a cáncer no polipósico hereditario. Se caracteriza por crecimiento en nidos sólidos, patrón organoide o trabecular, sin características inmunohistoquímicas de diferenciación neuroendocrina. También se caracterizan por numerosos linfocitos intratumorales.

B. El **grado histológico** es un factor pronóstico independiente del estadio especialmente el alto grado tiene un significado pronóstico adverso. La variabilidad inter e intraobservador especialmente en las categorías de bajo grado y en menor medida en las de alto grado, hace recomendable el uso de dos únicas categorías tal y como sucede en otras localizaciones: Bajo grado (bien y moderadamente diferenciado: tumores con diferenciación glandular en un porcentaje igual o mayor al 50%) y Alto grado (pobremente diferenciado e indiferenciado: con una diferenciación glandular menor del 50%).

C. Es recomendable valorar la presencia de características histológicas sugestivas de **inestabilidad de microsatélites** según el CAP son: linfocitos intratumorales (Nula; Moderada (1-2 linfocitos/cga); Marcada (3 o más linfocitos/cga), infiltrados linfocitarios peritumorales tipo Crohn, diferenciación mucinosa/células en anillo de sello o patrón de crecimiento de tipo medular.

D. Es conveniente evaluar la **extensión microscópica del tumor** reflejando la capa o capas de la pared que infiltra y con qué patrón de crecimiento lo hace: Expansivo o Infiltrativo con o sin presencia de fenómeno de "budding". Aunque en el manual de recomendaciones del CAP aún no figura como parámetro a consi-



derar, la presencia de “tumor budding” se ha postulado como un factor de mal pronóstico independiente. Se define como la presencia de células tumorales sueltas o pequeños nidos de más de 5 células tumorales en el frente de invasión tumoral (“peritumoral buds”) o dentro del tumoral principal (“intratumoral buds”). En los últimos años parece que su presencia se relaciona con presencia de metástasis ganglionares, enfermedad metastásica a distancia, recurrencia local, peor índice de supervivencia global y acortamiento de periodo libre de enfermedad. Parece tratarse de células que sufren transición epitelial-mesenquimal (EMT) un importante mecanismo en la progresión de tumores epiteliales.

- E. La presencia de **invasión linfo-vascular** incluye vasos pequeños (linfáticos, capilares y vénulas postcapilares) y se asocia con metástasis ganglionares y parece ser un factor independiente de comportamiento adverso. Se considera invasión venosa la presencia de nódulos tumorales bien circunscritos rodeados de lámina elástica visible con hematoxilina o con técnicas histoquímicas. También conviene reflejar si los vasos invadidos por el tumor son de mediano-gran tamaño y si la afectación es intramural (submucosa o muscular propia) o extramural (por fuera de la muscular propia) ya que esta última parece ser otro factor independiente de comportamiento adverso.
- F. Se consideran **depósitos tumorales** la presencia de nidos de tumor en la grasa pericólica o perirrectal más allá del límite inferior de la neoplasia, sin evidencia de tejido ganglionar pero dentro del drenaje linfático del tumor primario. No se deben contabilizar como ganglios linfáticos afectos. La gran mayoría se corresponden con invasión venosa y menos frecuentemente con invasión perineural o de vasos pequeños. Su presencia se relaciona con disminución de la supervivencia total y del periodo libre de enfermedad. Si se reconocen uno o más de estos depósitos en ausencia de ganglios linfáticos metastásicos, se debe categorizar como N1c en el TNM. Si se reconocen en presencia de ganglios linfáticos metastásicos, su presencia no altera el N, que se determina en este caso sólo con la presencia y número de ganglios afectos.
- G. El adenocarcinoma puede **originarse en distintos tipos de pólipos**: Adenoma tubular, Adenoma vellosa-Adenoma túbulo-velloso, Adenoma serrado tradicional, Adenoma /Pólipo Serrado sésil o sobre un Pólipo hamartomatoso.
- H. La terapia neoadyuvante en cáncer de recto se asocia con una potencial **respuesta tumoral** que se puede graduar siguiendo diferentes escalas en función de la cantidad de tumor residual que persista en la pieza quirúrgica. El grado de regresión tumoral debe ser valorado en lugar de asiento del tumor primario y no en los ganglios metastásicos. Los lagos de moco acelulares en pacientes que han recibido terapia previa, se consideran signos de erradicación completa tumoral y no deben usarse en estadio pT o cuantificarse como ganglios positivos en el caso en que aparezcan en el seno de un ganglio linfático.

## Bibliografía

1. Protocolo del CAP (enero de 2016): <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/cp-colon-16protocol-3400.pdf>
2. De Smedt L, Palmans S, Sagaert X. Tumour budding in colorectal cancer: what do we know and what can we do? *Virchows Arch* 2016; 468:397–408.
3. Rock JB, Washington MK, Adsay NV, Greenson JK, Montgomery EA, Robert ME, Yantiss RK, Lehman MA, Frankel WL. Debating Deposits: An Interobserver Variability Study of Lymph Nodes and Pericolonic Tumor Deposits in Colonic Adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138:636-642.
4. WHO Classification of Tumours of the Digestive System. Lyon,2010.
5. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2012;106:1713-7.

6. Puppa G, Senore C, Sheahan K, Vieth M, Luigli A, Zlobec I, et al. Diagnostic reproducibility of tumour budding in colorectal cancer: a multicentre, multinational study using virtual microscopy. *Histopathology* 2012;61:562-75.
7. Mitrovic B, Schaeffer DF, Ridell RH, Kirsch R. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Mod Pathol* 2012;25:1315-25.
8. Edge SB, Byrd DR, Carducci MA, Compton CC, eds. AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer; 2009.
9. Kang H, O'Connell JB, Maggard MA, Sack J, Ko CY. A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 2005;48(6):1161-1168.
10. Lim SB, Yu CS, Jang SJ, Kim TW, Kim JH, Kim JC. Prognostic significance of lymphovascular invasion in sporadic colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2010;53(4):377-384.
11. Betge J, Pollheimer MJ, Lindtner RA, et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer: prognostic significance and quality of pathology reporting. *Cancer* 2012;118(3):628-638.
12. Messenger DE, Driman DK, Kirsch R. Developments in the assessment of venous invasion in colorectal cancer: implications for future practice and patient outcome. *Hum Pathol* 2012;43(7):965-973.
13. Kirsch R, Messenger DE, Riddell RH, et al. Venous invasion in colorectal cancer: impact of an elastin stain on detection and interobserver agreement among gastrointestinal and nongastrointestinal pathologists. *Am J Surg Pathol* 2013;37(2):200-210.

## VI. DIAGNÓSTICO.

**M<sup>a</sup> Jesús Fernández-Aceñero**

El conjunto de datos mínimo en el informe final debe incluir:

1. Tipo de pieza quirúrgica analizada
2. Tipo histológico
3. Grado histológico
4. Tamaño de la neoplasia
5. En caso de haber recibido tratamiento neoadyuvante, grado de regresión (respuesta al tratamiento)
6. Extensión local de la neoplasia
7. Afectación ganglionar
8. Adecuación de la resección
9. Afectación vascular y nivel de la misma
10. Otros hallazgos
11. Estadificación
12. Datos adicionales: Inmunohistoquímica, patología molecular

La información que se describe a continuación es un resumen de las recomendaciones para el informe de cáncer de colon recogidas en las guías de los colegios americano, británico y australiano de patólogos.

**1. Tipo de pieza:** Especificar el tipo de pieza quirúrgica:

- Hemicolectomía derecha o izquierda, convencionales o ampliadas a transverso
- Sigmoidectomía
- Recto: resección anterior baja o ultrabaja, amputación abdominoperineal
- Colectomía subtotal
- Resecciones locales:
  - Polipectomía
  - Mucosectomía
  - Microcirugía transanal endoscópica (TEM por sus siglas en inglés)

**2. Tipo histológico:** Siguiendo los criterios de la OMS los tipos de tumor fundamentales pueden ser:

- Adenocarcinoma enteroide (convencional)
- Adenocarcinoma mucinoso (coloide): Más del 50% de mucina extracelular
- Carcinoma de células en anillo de sello: Más del 50% de células en anillo de sello
- Carcinoma epidermoide
- Carcinoma adenoescamoso
- Carcinoma medular: Asociado a IMS y caracterizado por patrón sincitial e infiltrado linfocitario denso
- Carcinoma cribiforme
- Carcinoma micropapilar
- Adenocarcinomas serrados
- Carcinoma fusocelular
- Carcinoma neuroendocrino
  - De célula grande
  - De célula pequeña
- Carcinoma mixto adenoneuroendocrino

**3. Grado histológico:** Actualmente se recomienda dividir todas las lesiones en:

- Bajo grado: tumores bien y moderadamente diferenciados, más del 50% de glándulas
  - Alto grado: tumores poco diferenciados; menos del 50% de glándulas
- Las variantes de célula pequeña y de anillo de sello siempre se consideran alto grado.

**4. Tamaño del tumor:**

- Tres dimensiones en cm
- En el caso de los pólipos malignizados es importante medir el tamaño del foco de infiltración

**5. Respuesta a neoadyuvancia:** Si el paciente ha recibido tratamiento neoadyuvante es clave valorar el grado de respuesta a la misma. Actualmente se recomienda usar el sistema de gradación de AJCC/ACP y que se corresponde al sistema de Ryan modificado. Dicho sistema contempla cuatro grupos:

- Regresión grado 0: Respuesta completa. Ausencia de tumor en los cortes tras incluir toda la pieza
- Regresión grado 1: Respuesta casi completa. Grupos aislados y escasos de células
- Regresión grado 2: Respuesta parcial. Persistencia de tumor, pero predominio de la fibrosis
- Regresión grado 3: Respuesta pobre o nula. Predominio del tumor con o sin datos de regresión asociados.

La regresión sólo considera el tumor primario y no la existente en los ganglios.

\* Existen otras escalas para cuantificar el grado de regresión, la de Dworak tiene cinco categorías: Remisión Completa: Grado 4; Presencia de Células Tumorales Aisladas: Grado 3; Predominio de Fibrosis: Grado 2; Predominio de Nidos de Células Tumorales: Grado 1; Ausencia de Regresión: Grado 0. Es necesario consensuar en los Comités de Tumores cuál se utilizará.

## 6. Extensión local del tumor:

- Se debe indicar la capa parietal que alcanza la neoplasia
- En el caso de las **piezas de polipectomía** se debe indicar el nivel de infiltración usando:
  - Pólipos pediculados o semipediculados: Niveles de Haggitt
    - Nivel 0: Malignización superficial (adenocarcinoma intramucoso)
    - Nivel 1: invasión de la submucosa en la cabeza del pólipo
    - Nivel 2: Invasión de la submucosa en el cuello del pólipo
    - Nivel 3: Invasión de la submucosa en la base del pólipo
    - Nivel 4: invasión de la submucosa por debajo de la base del pólipo
  - Pólipos sésiles: Dado que solo existirían dos niveles en la clasificación de Haggitt (0 y 4), se considera más adecuado emplear la clasificación de Kudo en tres grados:
    - Sm1: tercio superior de la submucosa
    - Sm2: tercio medio de la submucosa
    - Sm3: tercio inferior de la submucosa
- \* También es importante reflejar el porcentaje que supone el adenocarcinoma sobre el total del pólipo y consignar la distancia mínima del adenocarcinoma a la base de resección del pólipo. Por último es conveniente reflejar los factores de mal pronóstico:
  - Presencia de invasión linfo-vascular
  - Distancia al margen <1 mm
  - Presencia de focos de alto grado y/o margen infiltrativo del tumor con fenómeno de "budding".

Cuando se trate de un pólipo en pieza quirúrgica se podría añadir además el pTNM.

## 7. Afectación ganglionar:

- Se exigen al menos 12 ganglios para considerar el caso valorable.
- \* Siendo estrictos serían 12 ganglios negativos ya que si son positivos no se pide un mínimo de ganglios puesto que ya se pasa a un Estadio III directamente. La idea es tener un buen número de ganglios negativos antes de clasificarlo como N0.
  - Especificar siempre nº de ganglios afectados/nº de ganglios analizados
  - Si afectación de ganglios alejados (ilíacas, paraaórticos), se debe considerar M1
  - Si se encuentran micrometástasis (depósitos mayores de 0,2 mm y de 2 mm o menos) se considera el caso N+ (mic)
  - Si se encuentran células tumorales aisladas (depósitos menores de 0,2 mm) se recomienda mantener N0

## 8. Márgenes de resección: Se debe especificar si está libre o no y la distancia al mismo.

- Proximal
- Distal
- Radial: Este margen sólo se contempla para las áreas de colon que no están revestidas por peritoneo (recto, sobre todo en tercio distal, colon ascendente y descendente en su parte posterior)
- En las piezas de polipectomía es esencial medir la distancia al margen profundo (submucoso) e indicar el estado de los márgenes mucosos (si es posible)
- En las piezas de resección local de lesiones rectales (mucosectomía o TEM) se debe medir la distancia a todos los márgenes si la pieza viene orientada (superior, inferior, laterales y profundo)
- \* Sería muy conveniente conseguir que los cirujanos las enviaran orientadas y que o bien las clavasen ellos en poliespan o bien las remitieran en fresco para que nosotros lo hiciéramos.
  - Se considera margen libre cuando el tumor se encuentra a más de 1 mm del mismo
  - Con este criterio se hablará de resección: R0 (completa); R1 (afectación microscópica de márgenes) o R2 (afectación macroscópica de margen)

**9. Presencia de invasiones vasculares:**

- Vaso pequeño
- Vaso grande
- Especificar el máximo nivel de profundidad de las invasiones vasculares: submucoso, intramuscular o extramural

**10. Otros hallazgos:**

- Diverticulosis
- Adenomas: número y grado de displasia
- Otros pólipos
- Datos de enfermedad inflamatoria intestinal

**11. Estadío:** El informe final de un adenocarcinoma debe incluir el estadio pTNM, según los siguientes criterios en el momento actual:

- Estadío T: crecimiento local de la neoplasia
  - TX: Incapacidad para evaluar el tumor
  - T0: ausencia de tumor
  - Tis: adenocarcinoma intraepitelial o que invade la lámina propia
    - \*\* La utilización del término neoplasia mucosa de alto grado (Viena modificado) es otra posibilidad pero resulta imprescindible pactar los términos con los cirujanos de manera que se resequen lesiones con criterios adecuados evitando el shunt "neoplasia"- "cáncer".
  - T1: tumor que invade la submucosa
  - T2: tumor que infiltra la muscular propia
  - T3: tumor que alcanza la grasa perivisceral
  - T4: extensión a estructuras vecinas:
    - T4a: alcanza el peritoneo
    - T4b: invasión y/o adherencia a estructuras vecinas
  - \*\* En los tumores rectales no existe un estadio pT4a
  - \*\* Las piezas quirúrgicas que presentan perforación localizada a nivel del tumor que afecta al margen circunferencial se recomienda, en la *Dataset for colorectal cancer histopathology reports* (3ª ed. del *Royal College of Pathologists (RCPATH)*, clasificarlo como pT4b.
- Estadío N: afectación ganglionar
  - Nx: imposibilidad de valorar los ganglios regionales
  - N0: ausencia de metástasis
  - N1: metástasis en 1-3 ganglios, dividido en:
    - N1a: metástasis en 1 ganglio
    - N1b: metástasis en 2-3 ganglios
    - N1c: implantes tumorales discontinuos en la grasa suberosa, sólo aplicable cuando no existe afectación ganglionar
  - N2: metástasis en 4 o más ganglios
    - N2a: metástasis en 4-6 ganglios
    - N2b: metástasis en 7 o más ganglios
- Estadío M: afectación metastásica
  - M0: ausencia de metástasis
  - M1a: metástasis limitada a un órgano
  - M1b: metástasis en distintos órganos

Es preciso indicar la clasificación pTNM que se está empleando en cada momento. La clasificación actual de 2010 indica:

Estadio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1/T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3/T4a	N1	M0
	T2/T3	N2a	M0
	T1/T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3/T4a	N2b	M0
	T4b	N1/N2	M0
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1a

Es importante recordar que:

- La asignación del estadio TNM debe compilar la información clínica y el estudio macroscópico e histológico
- Siempre se usa el prefijo "p"
- Se debe poner prefijo "y" si el paciente ha recibido neoadyuvancia, por delante del "c" o "p" correspondiente
- Si se trata de una recidiva se puede emplear el prefijo "r"
- El estadio M se puede poner si se confirma histológicamente la metástasis o cambiar por una c si se informa de metástasis. En caso contrario se pondría pMx y se estadificaría con el mínimo estadio de la pieza quirúrgica

\*\* Existen otros sistemas de estadificación muy usados (como el de Dukes), pero se recomienda el uso de TNM como referencia universal.

12. Al final del informe se puede añadir un **comentario** si este queda pendiente de algún estudio complementario de inmunohistoquímica o patología molecular.

### Bibliografía

1. *Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum Low-grade neuroendocrine tumors (carcinoid tumors) are not included.* Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition Protocol web posting date: January 2016, College of American Pathologists.
2. *Colorectal cancer structured reporting protocol.* Royal College of Pathologists of Australia. First published: May 2016, 3rd Edition (Version 3.0) ISBN: 978-1-76000-434-7.

3. *Dataset for colorectal cancer histopathology reports - Royal College of Pathologists (RCPATH)*. Third edition, 2014.

## VII. ESTUDIO DE BIOMARCADORES EN CÁNCER DE COLON.

Elvira González Obeso

Un biomarcador es una molécula que se puede encontrar en la sangre, fluidos corporales o tejidos que es un indicador de la normalidad o la anormalidad de un proceso o condición. Los biomarcadores como norma general serán DNA, RNA, microRNA (miRNA), cambios epigenéticos o anticuerpos. El número de biomarcadores está en continuo crecimiento.

Los biomarcadores son herramientas esenciales para llevar a cabo la medicina personalizada y para garantizar la sostenibilidad del sistema de salud. También son cruciales para mejorar las probabilidades de éxito terapéutico.

El objetivo que se busca es clasificar los cánceres no sólo de acuerdo a perfiles moleculares (como por ejemplo, según su estado mutacional), si no, más importante aún, clasificarlos en función de la probable respuesta a las distintas terapias (es decir, de acuerdo a biomarcadores individuales en el contexto clínico y radiológico que permitan definir el abordaje terapéutico con más probabilidades de éxito). La combinación del perfil molecular y farmacológico de un tumor se augura como la estrategia terapéutica con mayor probabilidad de éxito.

En el cáncer de colon aún siguen describiéndose y estudiándose nuevos biomarcadores. En los últimos años se ha creado la siguiente lista: MSI, pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 18q (18qLOH), mutaciones en p53, KRAS, BRAF, NRAS y PIK3CA, alteraciones en la expresión de PTEN, polimorfismos en el gen UGT1A1 y la proteína ezrina. De todos ellos, está implantado el uso en la práctica diaria del estudio de las proteínas reparadoras del DNA, la detección de mutaciones en KRAS, NRAS y BRAF.

Durante el proceso de tallado es importante muestrear ampliamente el tumor para realizar un correcto estudio histológico del mismo. Una vez realizado el estudio histológico es conveniente dejar reflejado qué bloque es el más representativo del tumor, donde se observan la mayor parte de los patrones, el espesor máximo de infiltración y donde, a ser posible, la cantidad de necrosis y moco son menores. De esta manera se podrá recurrir siempre de forma fácil a este bloque para realizar todos los estudios de biomarcadores que sean necesarios sin tener que recurrir a revisar todos los cristales del caso para localizar el mejor bloque de tumor.

La realización del estudio de mutaciones en **RAS** se hace en dos genes, el K-RAS y el N-RAS. Deben ser estudiados en todos los cánceres de colon metastásicos para valorar la sensibilidad del tumor al tratamiento con terapias basadas en anticuerpos monoclonales frente a EGFR. Se puede realizar utilizando distintas plataformas comerciales para lo cual se realiza una extracción de DNA y se estudian los exones 2, 3 y 4 de ambos genes, bien secuencialmente o a la vez. El artículo de revisión de Hernández-Losa publicado en 2012 en la *Revista Española de Patología* hace una concienzuda revisión del tema y da unas recomendaciones que resultan de gran utilidad.

El estudio de mutaciones en **BRAF**, en concreto la V600E, también debe realizarse en los cánceres de colon. La mutación en este gen se encuentra entre un 5 y un 9% de los tumores y supone un factor de mal pronóstico (por mala respuesta al tratamiento). Se debe analizar en todos los cánceres de colon metastásicos. Se puede realizar utilizando distintas plataformas comerciales.

### Bibliografía

1. Gustaw Lech, Robert Słotwiński, Maciej Słodkowski, Ireneusz Wojciech Krasnodębski. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World J Gastroenterol* 2016; 22(5): 1745-1755.

2. Armand de Gramont, Sarah Watson, Lee M. Ellis, Jordi Rodón, Josep Tabernero, Aimery de Gramont and Stanley R. Hamilton. Pragmatic issues in biomarker evaluation for targeted therapies in cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2015;12:197-212.
3. Reena Shah, Emma Jones, Victoire Vidart, Peter J.K. Kuppen, John A. Conti, and Nader K. Francis. Biomarkers for Early Detection of Colorectal Cancer and Polyps: Systematic Review. *Cancer, Epidemiology, Biomarkers, and Prevention* 2014;23(9):1712-1728.
4. Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Carcinoma of the Colon and Rectum (diciembre 2014) del CAP: <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/cp-colorectalbiomarker-14.pdf>
5. Guía NCCN de cáncer colorrectal (2016): <https://www.nccn.org/patients/guidelines/colon/files/assets/common/downloads/files/colon.pdf>
6. Hernández-Losa J, Sanz J, Landolfi S, López-Ríos F, Palacios J, Bautista MD, Diaz-Rubio E, Tabernero J, García Foncillas J, Ramón y Cajal S. Recomendaciones para la determinación de mutaciones de K-RAS en cáncer de colon. *Rev Esp Patol* 2012;45(2):76-85.

## VIII. ESTUDIOS DE HEREDABILIDAD EN CÁNCER COLORRECTAL.

### Carolina Martínez Ciarpaglini

El síndrome de carcinoma colorrectal hereditario no asociado a poliposis (CCHNP) o síndrome de Lynch, es la forma más común de CCR hereditario y es responsable del 2 al 5% de todos los casos de CCR. Los pacientes afectados por este síndrome muestran un 70-80% de probabilidad de desarrollar CCR antes de los 70 años de edad, con un mayor riesgo de tumores sincrónicos o metacrónicos y una progresión más rápida de adenoma a carcinoma. En mujeres, este síndrome cursa con un elevado riesgo de cáncer de endometrio (42-60%), riesgo que resulta aún mayor que el riesgo de desarrollo de CCR (54%). Estos pacientes también presentan una elevada probabilidad de desarrollar otros tumores como son cáncer de estómago (13-19%), cáncer de ovario (9-12%), intestino delgado, páncreas, tracto hepatobiliar y tracto urinario (2-4%). La edad promedio de desarrollo de CCR en estos pacientes es de 45 años, edad considerablemente inferior que la edad de presentación en la población general que oscila alrededor de los 63 años.

El grupo de colaboración internacional en el síndrome de CCHNP, estableció en el año 1991 una serie de criterios para el diagnóstico de esta enfermedad conocidos como los criterios de Amsterdam. Estos criterios fueron modificados posteriormente (criterios de Amsterdam II, 1999) en un esfuerzo por incorporar tumores extracolónicos dentro de los criterios diagnósticos. Posteriormente se desarrolló un segundo conjunto de criterios, los criterios de Bethesda, con una sensibilidad mucho mayor, aunque con menos especificidad que los criterios de Amsterdam. En el año 2004 se modificaron algunos criterios de la guía y se elaboraron los criterios de Bethesda modificados, donde se incluyeron por primera vez las características histopatológicas asociadas a la presencia de un alto nivel de inestabilidad de microsatélites (IMS-H) (tabla 1 y 2).

El síndrome de CCHNP está causado por una mutación germinal que involucra a uno de los genes que codifican las proteínas reparadoras de ADN (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* o *PMS2*). El 90% de estas mutaciones ocurre en los genes *MLH1* y *MSH2* y ocasiona proteínas truncadas o defectuosas (*nonsense* or *frameshit mutations*). En condiciones normales, las proteínas reparadoras de microsatélites se encargan de enmendar el daño ocurrido espontáneamente durante la replicación del ADN, y el defecto en las mismas, ocasiona errores en la replicación conocidos como inestabilidad de microsatélites (IMS).



**Tabla 1:** Criterios de Bethesda modificados:

<p>Criterios de Bethesda modificados:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. CCR diagnosticado en un paciente de menos de 50 años de edad.</li> <li>2. Presencia de CCR sincrónico o metacrónico u otra neoplasia asociada al síndrome de CCHNP*, independientemente de la edad.</li> <li>3. CCR con histología sugestiva de un alto nivel de IMS (IMS-H) diagnosticado en un paciente de menos de 60 años de edad.</li> <li>4. Paciente con CCR y un familiar de primer grado con una neoplasia asociada al síndrome de CCHNP*, uno de ellos diagnosticado antes de los 50 años de edad.</li> <li>5. Paciente con CCR con dos o más familiares de primer o segundo grado con una neoplasia asociada al síndrome de CCHNP*, independientemente de la edad del diagnóstico.</li> </ol>
--

\* Neoplasias asociadas al síndrome de CCHNP: carcinoma colorrectal, carcinoma endometrial, carcinoma gástrico, carcinoma ovárico, carcinoma de uréter/pelvis, carcinoma de vejiga, carcinoma cerebral, carcinoma de tracto hepatobiliar y carcinoma cutáneo (neoplasias de glándulas sebáceas).

**Tabla 2.** Criterios histopatológicos asociados a IMS-H.

Criterios histopatológicos	Definición
Carcinoma mucinoso/carcinoma con células en anillo de sello	Carcinoma mucinoso: más del 50% del área tumoral está conformada por mucina extracelular. Carcinoma con células en anillo de sello: más del 50% del tumor está constituido por células con morfología en anillo de sello.
Carcinoma medular/carcinoma pobremente diferenciado	Carcinoma medular: tumores pobremente diferenciados o indiferenciados compuestos por masas sólidas de células con bordes bien definidos y una marcada infiltración linfocitaria peritumoral e intratumoral. Carcinoma pobremente diferenciado: tumores con mínima diferenciación glandular o producción de mucina pero con glándulas muy irregulares, difíciles de discernir.
Infiltrado linfocitario intratumoral	Presente cuando se observan al menos 5 linfocitos intraepiteliales en un campo de gran aumento (40X), examinando como mínimo 10 campos de gran aumento.
Reacción linfocitaria tipo Crohn	Presente cuando se identifican al menos 4 agregados linfoides nodulares en un campo de bajo aumento (4X), generalmente en el frente invasor o en la subserosa.

\* El grado de diferenciación debe ser valorado en las áreas menos diferenciadas y no en las más prominentes, excluyendo la dediferenciación o la gemación tumoral (tumoral budding) en el frente invasor.

En los criterios de Bethesda modificados se recomienda como método de selección de pacientes para estudios genéticos, la valoración de las proteínas reparadoras de microsátélites a través de la tinción inmunohistoquímica (de MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2), o alternativamente, a través del estudio de IMS por medio de PCR y electroforesis capilar. La técnica inmunohistoquímica es sin duda la más accesible en todos los centros, y hoy en día se considera suficiente como método de aproximación inicial. Durante la evaluación de la técnica inmunohistoquímica es importante asegurarse de observar el control interno positivo nuclear

en linfocitos, células estromales y mucosa normal. El resultado del estudio inmunohistoquímico puede interpretarse como:

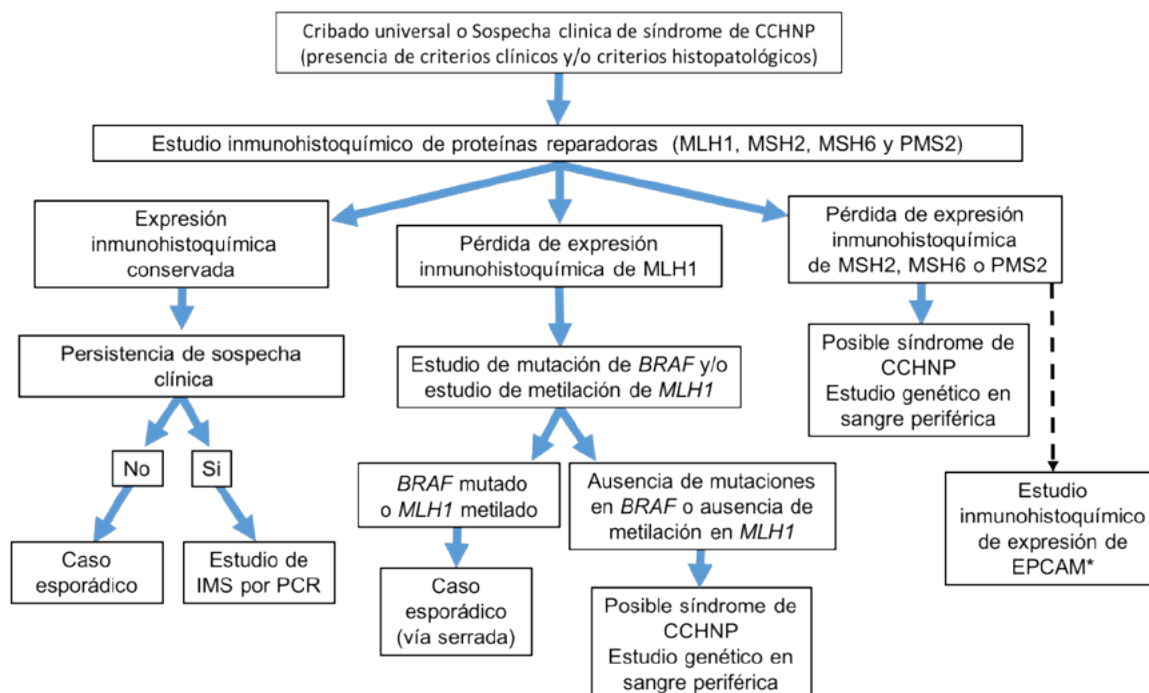
- Expresión conservada: cuando se observa positividad nuclear en las células tumorales con control interno positivo.
- Pérdida de expresión: cuando se observa ausencia de tinción nuclear en las células tumorales con control interno positivo.
- No valorable: cuando no se observa control interno.

Es importante tener en cuenta que la pérdida inmunohistoquímica de MLH1 bien sea de origen esporádico o germinal, suele asociarse con pérdida de su dímero PMS2. El mismo patrón de asociación se observa entre MSH2 y MSH6. Sin embargo, en los raros casos de mutaciones germinales en PMS2 o MSH6, solo se observa la pérdida de estas proteínas de forma aislada.

La mayor parte de los casos que muestran pérdida de expresión inmunohistoquímica de proteínas reparadoras o IMS-H, son en realidad de origen esporádico. La mutación V600E en el gen *BRAF* se ha descrito en 40-50% todos los casos de CCR IMS-H, y en este grupo, se presenta de forma exclusiva en aquellos asociados a la pérdida de expresión de *MLH1* de origen esporádico. Por lo tanto, en aquellos casos con pérdida inmunohistoquímica de la proteína MLH1, se recomienda el estudio de la mutación V600E del gen *BRAF* y/o el estudio de metilación de *MLH1*, con el fin de identificar casos de origen esporádico y seleccionar pacientes para la determinación de mutaciones germinales (figura1).

Recientemente se ha descrito la delección del gen *EPCAM* (*Epithelial Cellular Adhesion Molecule*) como otra de las alteraciones responsables del síndrome de CCHNP. Se estima que la delección del gen *EPCAM* es responsable de un 20-25% de todos los casos de CCHNP con pérdida de MSH2 en los que no se han podido detectar mutaciones germinales, lo que equivale a un 2-3% del total. Esto significa que las mutaciones en este gen son más frecuentes que las alteraciones aisladas en MSH6 y PMS2, lo que señala la necesidad de incorporar el estudio sistemático de *EPCAM* en el algoritmo diagnóstico de rutina de esta enfermedad.

**Figura 1.** Algoritmo para el diagnóstico del síndrome de CCHNP.



\* La alteración en el gen *EPCAM* ha sido descrita recientemente como una de las responsables del síndrome de CCHNP. El estudio inmunohistoquímico de la proteína *EPCAM* debe ser incorporado en el algoritmo diagnóstico, al menos en todos los casos que muestran pérdida de la expresión de MSH2.

La sensibilidad del estudio inmunohistoquímico es de 94% y si se asocia la técnica de PCR, la sensibilidad asciende a 100%, por lo que en casos que cumplan criterios clínicos y que no pierdan la expresión inmunohistoquímica de las proteínas, pueden asociarse ambos métodos. Esto se debe a que en algunos casos es posible encontrar mutaciones de cambio de sentido (*missense mutations*) que generan una proteína anómala pero detectable en estudios inmunohistoquímicos.

El estudio de proteínas reparadoras de microsátélites se recomienda en pacientes con CCR diagnosticado antes de los 50 años de edad o en aquellos entre 50 y 59 años que presenten al menos una de las características histopatológicas asociadas a IMS, especialmente en tumores localizados en colon derecho (donde ocurren entre 60 y 70% de los CCR asociados al síndrome). Sin embargo hoy en día se reconoce que algunos casos de CCR en pacientes con el síndrome de CCHNP se presentan después de los 60 años de edad, y que hasta 30% de los pacientes con este síndrome no cumple con los criterios clínicos de Bethesda, lo que justifica el cribado universal en todos los casos con nuevo diagnóstico de CCR independientemente de la historia familiar.

### Bibliografía

1. Nagy R, Sweet K, Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene* 2004;23: 6445–6470.
2. Sheffield BS, Hirsch-Reinshagen V, Schrader KA. How to Screen for Hereditary Cancers in General Pathology Practice. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140:899-909.
3. Lynch HT, Riley BD, Weissman SM, Coronel SM, Kinarsky Y, Lynch JF, Shaw TG, Rubinstein WS. Hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (HNPCC) and HNPCC-like families: Problems in diagnosis, surveillance, and management. *Cancer* 2004;100:53-64.
4. Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991;34:424-5.
5. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999;116:1453-6.
6. Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, Lynch H, Perucho M, Smyrk T, Sobin L, Srivastava S. J Natl A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *Cancer Inst* 1997;89:1758-62.
7. Syngal S, Fox EA, Eng C, Kolodner RD, Garber JE. Sensitivity and specificity of clinical criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer associated mutations in MSH2 and MLH1. *J Med Genet* 2000;37:641-5.
8. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:261-8.
9. Jenkins MA, Hayashi S, O'Shea AM, Burgart LJ, Smyrk TC, Shimizu D, Waring PM, Ruskiewicz AR, Pollett AF, Redston M, Barker MA, Baron JA, Casey GR, Dowty JG, Giles GG, Limburg P, Newcomb P, Young JP, Walsh MD, Thibodeau SN, Lindor NM, Lemarchand L, Gallinger S, Haile RW, Potter JD, Hopper JL, Jass JR. Colon Cancer Family Registry. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. *Gastroenterology* 2007;133:48-56.

10. Yearsley M, Hampel H, Lehman A, Nakagawa H, de la Chapelle A, Frankel WL. Histologic features distinguish microsatellite-high from microsatellite-low and microsatellite-stable colorectal carcinomas, but do not differentiate germline mutations from methylation of the MLH1 promoter. *Hum Pathol* 2006;37:831-8.
11. Bedeir A, Krasinskas AM. Molecular diagnostics of colorectal cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:578-87.
12. Cáncer colorectal hereditario no polipósico o síndrome de Lynch. En Guía de práctica clínica en cáncer hereditario. Servicio de la Oficina del Plan del Cáncer Dirección General de Salud Pública. Conselleria de Sanitat. Comunitat Valenciana, 2008.
13. Kohlmann W, Gruber SB. Lynch Syndrome. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Bird TD, Fong CT, Mefford HC, Smith RJH, Stephens K, editors. GeneReviews® [Internet]. University of Washington, Seattle; 1993-2016. 2004 Feb 5 [updated 2014 May 22].
14. Navarro S, Pérez-Segura P, Ramón y Cajal S, Salazar R, García-Foncillas J, Musulén Palet E, García-Carbonero R, Payá A, García-Alfonso P. 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* 2012;45:130-144.
15. Usha L, Dewdney SB, Buckingham LE. Tumor Screening and DNA Testing in the diagnosis of Lynch Syndrome. *JAMA* 2016;316:93-4.
16. Loughrey MB, Waring PM, Tan A, Trivett M, Kovalenko S, Beshay V, Young MA, McArthur G, Boussioutas A, Dobrovic A. Incorporation of somatic BRAF mutation testing into an algorithm for the investigation of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Fam Cancer* 2007;6:301-10.
17. Grover S. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): Clinical manifestations and diagnosis. Uptodate. Aug 2016. Last updated: Jan 19, 2016.
18. Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL, Goossens M, Hebeda KM, Voorendt M, Lee TY, Bodmer D, Hoenselaar E, Hendriks-Cornelissen SJ, Tsui WY, Kong CK, Brunner HG, van Kessel AG, Yuen ST, van Krieken JH, Leung SY, Hoogerbrugge N. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nat Genet* 2009;41:112-7.
19. Beamer LC1, Grant ML, Espenschied CR, Blazer KR, Hampel HL, Weitzel JN, MacDonald DJ. Reflex immunohistochemistry and microsatellite instability testing of colorectal tumors for Lynch syndrome among US cancer programs and follow-up of abnormal results. *J Clin Oncol* 2012;30(10):1058-63.
20. Tuttlewska K, Lubinski J, Kurzawski G. Germline deletions in the EPCAM gene as a cause of Lynch syndrome - literature review. *Hered Cancer Clin Pract* 2013 Aug 12;11:9.
21. Huth C, Kloor M, Voigt AY, Bozukova G, Evers C, Gaspar H, Tariverdian M, Schirmacher P, von Knebel Doeberitz M, Bläker H. The molecular basis of EPCAM expression loss in Lynch syndrome-associated tumors. *Mod Pathol* 2012;25:911-6.
22. Musulen E, Blanco I, Carrato C, Fernandez-Figueras MT, Pineda M, Capella G, Ariza A. Usefulness of epithelial cell adhesion molecule expression in the algorithmic approach to Lynch syndrome identification. *Hum Pathol* 2013;44:412-6.

23. Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Carcinoma of the Colon and Rectum (diciembre 2014) del CAP: <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/cp-colorectalbiomarker-14.pdf>

## **IX. CRIBADO DEL CÁNCER COLORRECTAL.**

**Carolina Martínez Ciarpaglini, Elvira González Obeso**

El carcinoma colorrectal (CCR) se desarrolla en la mayor parte de los casos a partir de lesiones precursoras pre-malignas conocidas como "adenomas". Los adenomas pueden ocurrir en cualquier porción del tracto colorrectal, y el crecimiento progresivo de los mismos junto con la acumulación de mutaciones origina eventualmente el desarrollo de neoplasias de alto grado, que podrían invadir la submucosa u otras porciones más profundas de la pared intestinal. Se estima que esta secuencia adenoma-carcinoma tiene una duración aproximada de 10 años, período durante el cual la enfermedad suele ser asintomática. Este largo periodo preclínico en el que la enfermedad es diagnosticable y sensible al tratamiento, provee una excelente oportunidad para la detección del CCR en fases tempranas y hacen que esta sea particularmente susceptible a los estudios de cribado. Las guías europeas de cribado del CCR, recomiendan la aplicación de estudios poblacionales de cribado utilizando test sensibles y ofreciendo guías de calidad para todo el proceso de diagnóstico y seguimiento. En estas guías se señala el estudio de sangre oculta en heces (SOH) como el mejor método para la selección poblacional, seguido de colonoscopia completa en los casos positivos, con toma de biopsias múltiples y exéresis de lesiones sospechosas. Este modelo ha demostrado una repercusión significativa en la supervivencia de la enfermedad que se traduce en una reducción de la mortalidad de entre 14-16%. En España este programa ha sido adoptado y actualmente se aplica siguiendo las recomendaciones europeas, en hombres y mujeres con edades comprendidas entre 50 y 69 años, con un intervalo de 2 años entre cada prueba. El estudio histopatológico de especímenes de polipectomía, es por lo tanto un área particularmente demandante en los programas de cribado del CCR, y se ha visto reflejado en el abrumador incremento de este tipo de muestras en los laboratorios de anatomía patológica en los últimos años. Por este motivo el patólogo es sin duda alguna una de las piezas clave en los programas de cribado ya que el manejo de los pacientes depende totalmente de la calidad y la exactitud del diagnóstico. Se espera que el patólogo que participa en estos programas sea capaz de clasificar adecuadamente lesiones polipoides, identificar y gradar lesiones malignas, y valorar los factores histopatológicos con valor pronóstico en la enfermedad. Centraremos por lo tanto esta guía en los criterios histopatológicos necesarios para valorar lesiones malignas y premalignas basándonos en la evidencia actual y en las recomendaciones de las guías europeas de cribado del CCR.

### **Gradación de la neoplasia:**

La guía de consenso europeo recomienda la clasificación de Viena modificada para el análisis de las biopsias de cribado ya que en esta se incluyen las recomendaciones clínicas a seguir en cada categoría. Con la idea de unificar conceptos y mejorar su reproducibilidad se ha simplificado la clasificación utilizando solo dos categorías: "neoplasia de bajo grado" y "neoplasia de alto grado". Adicionalmente se ha eliminado la categoría "indefinido para displasia" ya que suele ser infrecuente su utilización fuera del contexto de la enfermedad inflamatoria intestinal. En el apartado de "neoplasias de alto grado" se encuentran incluidos también los carcinomas que muestran invasión de lámina propia limitada a la mucosa. En la guía se desaconseja el uso de los términos: "carcinoma intramucoso" y "carcinoma in situ", y se recomienda incluir a estas lesiones dentro del grupo de "neoplasias de alto grado" ya que el manejo clínico de estos casos es similar.

Hay centros en los que la clasificación de Viena no está implementada. En cualquier caso, tiene que haber acuerdo entre los diferentes especialistas para usarla, sobre todo entre todos aquellos que participen en los comités multidisciplinares, de manera que los conceptos anatomopatológicos queden claros.

Los adenomas, incluidos en la categoría de neoplasias de bajo grado, se clasifican de acuerdo a la proporción de estructuras vellosas de la siguiente forma:

- Adenoma tubular: estructuras vellosas ausentes o presentes en una proporción inferior al 20% de la lesión.
- Adenoma túbulo-veloso: cuando al menos 20% de la lesión se encuentra conformada por estructuras vellosas. En el caso de muestras fragmentadas o superficiales, la presencia de al menos una vellosidad claramente identificable, justifica la inclusión de la lesión en esta categoría.
- Adenoma vellosos: cuando al menos 80% de la lesión se encuentra conformada por estructuras vellosas.

Es necesario distinguir los pólipos hiperplásicos de otras lesiones serradas, ya que el potencial maligno de estos últimos es mínimo y no ameritan seguimiento. Por el contrario, para las lesiones serradas con displasia como es el caso de los adenomas serrados tradicionales o de pólipos mixtos, se recomienda un enfoque similar al adoptado para los adenomas.

Se recomienda señalar en el informe de patología la presencia de lesiones planas o de morfología deprimida como "lesiones no polipoides". Distinguir en el estudio histopatológico una lesión plana de otra polipode puede resultar difícil, por lo que resulta de gran ayuda la descripción que el endoscopista haga de ellas. Además conviene realizar correlación entre los hallazgos endoscópicos e histológicos.

**Tabla 1:** Clasificación de Viena modificada y cambios realizados en la guía europea de cribado del CCR.

Clasificación de Viena modificada	Gradación recomendada en la guía de cribado europeo para CCR	Recomendaciones clínicas
Viena 1: Negativo para neoplasia	Negativo para neoplasia	Seguimiento opcional
Viena 2: Indefinido para neoplasia.	Eliminado de la clasificación	
Viena 3: Neoplasia mucosa de bajo grado: Adenoma de bajo grado. Displasia de bajo.	Neoplasia mucosa de bajo grado: Adenoma de bajo grado. Displasia de bajo.	Resección endoscópica y seguimiento.
Viena 4: Neoplasia mucosa de alto grado: Adenoma/displasia de alto grado. Carcinoma no invasor (carcinoma in situ). Carcinoma intramucoso.	Neoplasia mucosa de alto grado: Adenoma/displasia de alto grado. Neoplasia intraepitelial de alto grado. En esta categoría se incluyen las neoplasias con infiltración limitada a la lámina propia mucosa. (OMS: pTis)	Resección endoscópica o resección quirúrgica local.
Viena 5: Invasión submucosa por carcinoma (pT1)	Carcinoma invadiendo la submucosa o más allá. (OMS: pT1, pT2, pT3 y pT4)	Resección quirúrgica*.

\* El tratamiento de elección depende del tamaño de la lesión, la localización y la profundidad de la invasión determinada por el estudio endoscópico, radiológico o ultrasonográfico y de factores generales como la edad del paciente y la comorbilidad.

**Tabla 2:** Criterios arquitecturales y citológicos para el diagnóstico de las neoplasias de bajo y alto grado. (2)

	Neoplasia mucosa de alto grado	Neoplasia mucosa de bajo grado
Criterios arquitecturales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Complejidad glandular.</li> <li>- Fusión de paredes glandulares (back to back) y aspecto cribiforme.</li> <li>- Proyecciones papilares intraluminales.</li> </ul>	Arquitectura tubular o vellosa con menor complejidad arquitectural.*
Criterios citológicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Al menos 2 a 5 hileras de núcleos, con variación del número de hileras en glándulas individuales.</li> <li>- Pérdida de polaridad y maduración, con distribución de los núcleos en los dos tercios superficiales del epitelio.</li> <li>- Células caliciformes atípicas (con vesículas subnucleares)</li> <li>- Núcleos grandes con nucléolo prominente.</li> <li>- Figuras mitóticas atípicas.</li> <li>- Apoptosis prominente, acúmulo de detritus o necrosis focal.</li> </ul>	Empalizadas de núcleos elongados con polaridad conservada.*

Para el diagnóstico de neoplasias de alto grado deben coexistir al menos dos criterios citológicos y dos criterios arquitecturales. En biopsias fragmentadas o pequeñas podrían aplicarse solo criterios citológicos, recomendando la exéresis completa de la lesión o la nueva toma de biopsias para valorar la arquitectura.

\* Cualquiera de los criterios citológicos mencionados para el diagnóstico de neoplasias de alto grado puede presentarse de forma individual en las neoplasias de bajo grado, especialmente en la superficie donde suele ocurrir trauma y ulceración. Así mismo, cortes tangenciales de estructuras tubulares ramificadas pueden ocasionar imágenes de complejidad o de fusión de paredes en las neoplasias de bajo grado.

#### Determinación del tamaño de la lesión:

El diámetro máximo de la lesión es un parámetro importante y la recomendación actual es que la medición más objetiva es aquella que realiza el patólogo sobre la preparación histológica. En esta última es posible determinar exactamente la extensión del adenoma o de la lesión infiltrante sin considerar la mucosa normal. Si la lesión es muy grande y se ha incluido en varios bloques, debe utilizarse la medida tomada durante el estudio macroscópico. En el caso de que el espécimen se encuentre fragmentado, se debe utilizar la medida determinada en el estudio endoscópico.

#### Valoración del nivel de infiltración

En la guía europea de cribado, así como en la clasificación de la OMS de los tumores del tracto gastrointestinal, se considera como adenocarcinoma, la invasión de células neoplásicas en la submucosa. Esto implica que aquellas neoplasias con invasión limitada a la lámina propia mucosa, deben ser clasificadas como neoplasias mucosas de alto grado, sustituyendo así al término de carcinoma intramucoso. Aunque estos mismos tumores pueden ser denominados "carcinoma in situ" (pTis), la guía de cribado europeo también desaconseja la utilización de dicho término. Por lo tanto estas neoplasias, aunque son infiltrantes, pueden



ser tratadas de la misma forma que las neoplasias mucosas sin invasión, en vista de que se ha demostrado que carecen de potencial metastásico probablemente como consecuencia de la ausencia de vasos linfáticos en la lámina propia.

Otra visión es la aportada por los protocolos del CAP en los que si se reconoce la entidad del adenocarcinoma intramucoso y se la estadifica como pTis. El término "carcinoma in situ" se ha eliminado en favor de la displasia de alto grado. Sin embargo el RCPATH, al igual que la ESP desaconsejan su utilización. Por lo tanto resulta imprescindible acordar en el Comité Multidisciplinar qué clasificación anatomopatológica se utilizará y así se plantearán los tratamientos en consonancia.

Se estima que solo un 5–6% de las lesiones polipoides examinadas de rutina contienen una neoplasia infiltrante. En estas últimas, la valoración de la profundidad de invasión y de los márgenes de resección debe ser lo más explícita posible ya que de estos factores depende el estadio de la lesión y la necesidad de resección quirúrgica con el consiguiente incremento de la morbimortalidad. Sin embargo, la valoración óptima no siempre es posible como resultado de la fragmentación o de la mala orientación de la muestra. En este último caso se debe señalar en el informe los factores que limitan la adecuada valoración de la lesión.

### **Estratificación de riesgo en neoplasias pT1**

La infiltración neoplásica submucosa supone la apertura del acceso de las células tumorales a la circulación linfática y venosa, y por lo tanto la posibilidad de metástasis. El manejo clínico de estas neoplasias debe ser definido de forma individual en cada caso, de acuerdo a la presencia o ausencia de una serie de factores que han demostrado utilidad en la predicción de la presencia de metástasis ganglionares o a distancia, y que permiten determinar la opción más adecuada entre el seguimiento y la cirugía. La mayor parte de dichos factores son histopatológicos e incluyen: la valoración del margen de resección, profundidad de la invasión submucosa, presencia de invasión linfovascular o perineural, grado de diferenciación histológica y presencia de gemación tumoral (o *tumor budding*) en el frente invasor.

Es necesario tener en cuenta la posibilidad de seudo inclusiones de tejido que ocurren como consecuencia de la torsión de pólipos con pedículos largos, o por prolapso e inflamación de pólipos, con mayor frecuencia en aquellos localizados en sigma. Esto ocasiona la presencia de glándulas submucosas que simulan invasión, especialmente cuando estas contienen neoplasias intramucosas de alto grado. En estos casos suelen observarse lagos de mucina disecando el tejido, o glándulas muy dilatadas. Es útil ante estas imágenes, valorar el estroma que rodea a dichas glándulas. La presencia de estroma desmoplásico apunta hacia una neoplasia infiltrante, mientras que su ausencia, o la presencia de hemosiderófagos favorecen un posible origen traumático, aunque estos últimos también pueden observarse en neoplasias infiltrantes.

El protocolo del CAP utiliza el estadiaje pT para valorar la profundidad de infiltración del adenocarcinoma sobre el pólipo. La principal ventaja de utilizarlo es que eliminamos la variabilidad interobservador entre el tipo de pólipo que el endoscopista ve y el tipo de pólipo que nosotros recibimos fijado. La mayor parte de los pólipos que recibimos carecen de pedículo, bien porque al seccionarlo el endoscopista deja parte en la pared del intestino, bien porque se retrae durante la fijación o bien una combinación de ambas. Como resultado a veces existen serias dificultades para graduar el nivel de infiltración Haggitt 2 y 3, siendo el Haggitt 4 el nivel que más prevalece.

La dificultad de emplear los niveles de Kikuchi reside en que no solemos recibir suficiente submucosa en la resección del pólipo como para valorar el nivel sm1 y sm2, es excepcional recibir una pieza de polipectomía que adjunte un nivel sm3 de submucosa que podamos valorar.

Se han propuesto otras escalas como la de Ueno pero también son difíciles de aplicar. Vuelve a ser necesario llegar a un consenso en relación a este aspecto para evitar errores de interpretación del informe anatomopatológico y posibles errores en el tratamiento del paciente.



## Bibliografía

1. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60:277-300.
2. Minozzi S, Armaroli P, Banzi R et al. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis - First edition. *Endoscopy* 2013;45:51-9.
3. Council of the European Union. Council Recommendation of 2 December 2003 on cancer screening (2003/878/EC). *Off J Eur Union*; 2003: 34-38.
4. Viet M, Quirke P, Lambert R, von Karsa L, Risio M; International Agency for Research on Cancer. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition--Annotations of colorectal lesions. *Endoscopy* 2012;44 Suppl 3:SE131-9.
5. BOE-A-2014-11444. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Núm. 269, de 6 de noviembre de 2014: 91369-91382.
6. R J Schlemper, R H Riddell, Y Kato, F Borchard, H S Cooper, S M Dawsey, M F Dixon, C M Fenoglio-Preiser, J-F Fléjou, K Geboes, T Hattori, T Hirota, M Itabashi, M Iwafuchi, A Iwashita, Y I Kim, T Kirchner, M Klimpfinger, M Koike, G Y Lauwers, K J Lewin, G Oberhuber, F OVner, A B Price, C A Rubio, M Shimizu, T Shimoda, P Sipponen, E Solcia, M Stolte, H Watanabe, H Yamabe. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut* 2000;47:251-255.
7. Dixon M F. Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. *Gut* 2002;51:130-131.
8. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. International Agency of Research on Cancer. Lyon, 2010.
9. Risio M. The Natural History of pT1 Colorectal Cancer. *Front Oncol* 2012;2:22.
10. Berho M, Bejarano P. Risk stratification of pT1 colorectal tumors based on histopathological analysis: read at your own risk. *Dis Colon Rectum* 2015;58:373-4.
11. Nascimbeni R, Burgart LJ, Nivatvongs S, Larson DR. Risk of lymph node metastasis in T1 carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 2002;45:200-6.
12. Protocolo del CAP (enero de 2016): <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/cp-colon-16protocol-3400.pdf>
13. Protocolos del RCPATH: [http://www.rcpath.org/Resources/RCPATH/Migrated%20Resources/Documents/G/G049\\_ColorectalDataset\\_July14.pdf](http://www.rcpath.org/Resources/RCPATH/Migrated%20Resources/Documents/G/G049_ColorectalDataset_July14.pdf)
14. Guía NCCN de cáncer colorrectal (2016): <https://www.nccn.org/patients/guidelines/colon/files/assets/common/downloads/files/colon.pdf>
15. De Smedt L, Palmans S, Sagaert X. Tumour budding in colorectal cancer: what do we know and what can we do? *Virchows Arch* 2016;468:397-408.

## **X. CRITERIOS DE CALIDAD DEL INFORME ANATOMOPATOLÓGICO EN CÁNCER COLORRECTAL.**

**M<sup>a</sup> Jesús Fernández-Aceñero**

Las recomendaciones internacionales revisadas sugieren los siguientes criterios como control de calidad de los informes finales de cáncer de colon:

- Número mediano de ganglios aislados en las piezas: 12 ganglios.
- Afectación serosa en 20% de los cánceres de colon.
- Afectación venosa en 30% de los cánceres de colon (a cualquier nivel).
- 95% de informes ajustados a un protocolo preformado.
- Tiempo de emisión del informe entre 8 y 10 días.

Resultaría de gran utilidad especificar en el Diagnóstico el mejor bloque para estudios adicionales ya que facilita mucho el trabajo de los demás en caso de consulta de segunda opinión y agiliza mucho el trabajo del laboratorio.

# Tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos

Angel Concha<sup>1</sup>, Antonio Ferrández<sup>2</sup>, Luis Ortega<sup>3</sup>, Jorge Pombo<sup>1</sup>, Teresa Serrano<sup>4</sup>, Alberto Veiga<sup>1</sup>

1 Complejo Hospitalario Universitario, A Coruña

2 Hospital Clínico de Valencia

3 Hospital Clínico San Carlos, Madrid

4 Hospital de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat, Barcelona

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

La OMS considera que todas las neoplasias neuroendocrinas gastroenteropancreáticas son potencialmente malignas, pero difieren considerablemente en su capacidad metastásica. **Sin embargo, cuando el tumor primario está aún localizado es muy difícil predecir esta capacidad metastásica por lo que la OMS propone una estratificación pronóstica en 3 etapas** que consiste primero en separar los tumores neuroendocrinos bien diferenciados de los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados, segundo en darles un grado histológico basado en el índice proliferativo y tercero hacer la estadificación pTNM.

Grado histológico propuesto por la ENETS e incorporado por la OMS en 2010

Grado histológico	Mitosis (nº/10CGA) Se valoran 50 CGA	Índice proliferativo Ki67 (%) Se valoran entre 500-2000 células
Grado 1	<2/10 CGA	≤2%
Grado 2	2-20/10 CGA	3-20%
Grado 3	>20/10CGA	>20%

También hay que tener en cuenta que las neoplasias neuroendocrinas pueden formar de tumores mixtos aunque se precisa que cada componente represente al menos un 30% del tumor.

A continuación se van a comentar las recomendaciones para el estudio macroscópico y para el informe anatomopatológico en función de las distintas localizaciones: pancreáticos, de la ampolla de Vater, esofágicos, gástricos, intestino delgado, apéndice

## II. TUMORES NEUROENDOCRINOS PANCREÁTICOS

Teresa Serrano

1. **Estudio intraoperatorio:** En las resecciones de tumores neuroendocrinos suele realizarse estudio peroperatorio para valorar el margen de resección pancreático.

2. **En el estudio macroscópico** se recomienda valorar: si el crecimiento es expansivo o infiltrativo, el diámetro máximo del tumor, si tiene un aspecto esclerosado, las áreas de aspecto necrótico, la invasión vascular macroscópica, la invasión de órganos adyacentes (ej. bazo), la distancia al margen de resección pancreático.
3. **Toma de muestras:** Se recomienda una sección panorámica de todo el diámetro máximo del tumor para lo cual se utilizarán un número determinado de cápsulas en función del tamaño de la lesión. También se recomienda toma de muestras de cualquier área macroscópica de interés descrita en el estudio macroscópico, del margen de resección y del parénquima no tumoral.
4. **Estudio microscópico:** En primer lugar se recomienda valorar la **diferenciación tumoral**, separando los tumores neuroendocrinos bien diferenciados de los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados, estos últimos mucho menos frecuentes. Los tumores neuroendocrinos bien diferenciados recuerdan a las células de los islotes de Langerhans y pueden mostrar monotonía nuclear y núcleos con cromatina en "sal y pimienta", o más frecuentemente mostrar cierto pleomorfismo nuclear e incluso algún nucléolo, pero nunca los núcleos son vesiculosos con un nucleolo central muy prominente. Puede haber necrosis. Las células pueden ser fusiformes o mostrar cambio de célula clara. El patrón histológico puede ser en forma de nidos o trabecular pero también puede ser sólido y suele destacar la marcada vascularización. Pueden mostrar esclerosis y a veces esta es muy marcada llegando a plantear el diagnóstico diferencial con otros tipos histológicos como un adenocarcinoma ductal. Es menos frecuente el patrón pseudoglandular, como por ejemplo en el somatostatina, donde este patrón puede ser puro y dificultar el diagnóstico.  
 Los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados pueden ser de célula grande o de célula pequeña. Los de célula grande pueden plantear más problemas de diagnóstico diferencial con los tumores neuroendocrinos bien diferenciados, pero el patrón sólido y las células con núcleos vesiculosos y nucleolo prominente son característicos.

5. **Estudio inmunohistoquímico** para confirmar el diagnóstico. La tinción para una PanK será positiva. Hay que tener en cuenta que la CK7 suele ser negativa, especialmente en los tumores neuroendocrinos bien diferenciados. Para confirmar la naturaleza neuroendocrina se recomienda utilizar los dos marcadores neuroendocrinos generales como la sinaptofisina y cromogranina. No es imprescindible valorar con tinciones inmunohistoquímicas la expresión de los diversos marcadores hormonales (insulina, glucagón, somatostatina, PP, gastrina, VIP, PP, serotonina, ACTH,...), pero ayuda a completar el estudio. La tinción inmunohistoquímica para Ki67 es imprescindible porque va a permitir valorar el índice proliferativo.

Una vez que hemos valorado la diferenciación tumoral vamos a dar **el grado histológico que se basa en el índice proliferativo y se valora con el índice proliferativo Ki67** y de una manera menos precisa con el índice mitótico (Tabla 1). El grado tumoral está relacionado con la diferenciación tumoral pero no es lo mismo. Habitualmente las neoplasias neuroendocrinas pancreáticas son tumores neuroendocrinos bien diferenciados grado 2 y con menor frecuencia grado 1. Con mucha menor frecuencia nos encontramos con carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados grado 3 de célula grande o de célula pequeña, que representarían tan sólo un 2-3% de las neoplasias neuroendocrinas pancreáticas. Hay tumores neuroendocrinos morfológicamente bien diferenciados pero que al hacer la valoración del Ki67 este es superior a un 20%, con lo que estaríamos ante un tumor neuroendocrino bien diferenciado grado 3.

<b>Neoplasias neuroendocrinas pancreáticas OMS 2010</b>
Microadenoma neuroendocrino pancreático
Tumor neuroendocrino (NET) grado 1
Tumor neuroendocrino (NET) grado 2
Carcinoma neuroendocrino (NEC) de célula grande
Carcinoma neuroendocrino (NEC) de célula pequeña

Tumor neuroendocrino productor de serotonina (carcinoide)
Tumor neuroendocrino productor de gastrina (Gastrinoma)
Tumor neuroendocrino productor de glucagón (Glucagonoma)
Tumor neuroendocrino productor de insulina (Insulinoma)
Tumor neuroendocrino productor de somatostatina (Somatostatinoma)
Tumor neuroendocrino productor de VIP (Vipoma)
Tumor neuroendocrino productor de ACTH
Carcinoma exocrino-endocrino mixto

## 6. Estadificación pTNM

Hay 2 sistemas de estadificación, el propuesto por la ENETS (europeo) y el propuesto por la AJCC/UICC (americano). Hasta la 7ª edición de la AJCC/UICC las diferencias entre estos 2 sistemas eran muy significativas pero en 8ª edición publicada en 2017 las diferencias han desaparecido y en ambos sistemas tiene mucho peso la medida del tumor.

### pTNM propuesto por la ENETS y por la 8th edition del AJCC/UICC 2017 Cancer Staging Manual

	ENETS	AJCC/UICC
T1	Limitado al páncreas, <2 cm	Limitado al páncreas ≤ 2 cm
T2	Limitado al páncreas, 2-4 cm	Limitado al páncreas >2 cm pero <4 cm
T3	Limitado al páncreas >4 cm, o invasión del duodeno o del colédoco	Limitado al páncreas >4 cm, o invasión del duodeno o del colédoco
T4	Afectación del estómago, bazo, colon o suprarrenal o invasión de grandes vasos como la arteria mesentérica superior o el tronco celiaco	Invasión de órganos y estructuras adyacentes

Nota: En ambas clasificaciones, en la definición de tumor limitado al páncreas se acepta la invasión del tejido adiposo peripancreático pero se excluye la invasión de órganos adyacentes.

## 7. Informe anatomopatológico:

TUMOR NEUROENDOCRINO BIEN DIFERENCIADO/CARCINOMA NEUROENDOCRINO POCO DIFERENCIADO, GRADO \_\_\_ (Ki67 \_\_\_ %), de \_\_\_ cm.

PRESENCIA DE INVASIÓN VASCULAR Y/O PERINEURAL

MÁRGENES DE RESECCIÓN

METÁSTASIS GANGLIONARES

pTNM

## III. TUMORES NEUROENDOCRINOS DE LA AMPOLLA DE VATER

Teresa Serrano

En la ampolla de Vater los **carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados** representan un 5%, es decir son más frecuentes que en el páncreas. La ampolla de Vater es una de las localizaciones **donde es importante tener muy presente la presencia de tumores mixtos**. Cada componente tiene que representar un 30% del tumor. El componente neuroendocrino puede ser bien diferenciado o poco diferenciado. Cuando es poco diferenciado y coincide con un adenocarcinoma podría pasar desapercibido e interpretarse como un área poco diferenciada del adenocarcinoma, con las repercusiones en cuanto al pronóstico y tratamiento adjuvante en el caso de precisarlos.

Entre los tumores neuroendocrinos bien diferenciados con expresión de hormonas destacan los que expresan **somatostatina**. Morfológicamente son muy característicos ya que tienen un **patrón predominantemente glandular con cuerpos de psammoma**. Los pacientes con Neurofibromatosis de tipo 1 (Enfermedad de von Recklinhausen) tienen un riesgo aumentado de desarrollar tumores neuroendocrinos bien diferenciados que expresan somatostatina.

Es una localización de **paragangliomas gangliocíticos**. Estos son de localización más periampular que ampular y muestran 3 tipos de células. Las células neuroendocrinas, las células fusiformes con diferenciación a células de Schwann y células ganglionares. Son tumores que a diferencia de otros paragangliomas expresan panqueratinas.

Neoplasias neuroendocrinas de la ampolla de Vater OMS 2010
Tumor neuroendocrino (NET) grado 1
Tumor neuroendocrino (NET) grado 2
Carcinoma neuroendocrino (NEC) de célula grande
Carcinoma neuroendocrino (NEC) de célula pequeña
Carcinoma adenoneuroendocrino mixto
Tumor neuroendocrino productor de serotonina
Paraganglioma gangliocítico
Tumor neuroendocrino productor de somatostatina

**pTNM para la ampolla de Vater propuesto por la ENETS y por la 8ª edición de AJCC/UICC 2017:** no hay diferencias en esta localización.

	ENETS	AJCC/UICC
T1	El tumor invade la lámina propia o la submucosa, ≤1 cm	El tumor invade la lámina propia o la submucosa, ≤1 cm, confinado dentro del esfínter de Oddi.
T2	El tumor invade la muscular propia o >1 cm	El tumor invade a través del esfínter la submucosa o la muscular propia duodenal, o >1 cm
T3	El tumor invade el páncreas o el retroperitoneo	El tumor invade el páncreas o el retroperitoneo
T4	El tumor perfora el peritoneo visceral o invade otros órganos	El tumor perfora el peritoneo visceral o invade otros órganos

**Informe anatomopatológico:** se puede seguir el mismo modelo que el comentado para el páncreas.

#### IV. TUMORES NEUROENDOCRINOS ESOFÁGICOS

Luís Ortega

1. **Estudio intraoperatorio:** No suele realizarse, aunque en ocasiones se utiliza para valorar márgenes de resección.
2. **Estudio macroscópico:** procedimiento realizado, localización, tamaño y localidad (únicos o múltiples). Extensión macroscópica e invasión de órganos adyacentes y tipo de crecimiento (expansivo, infiltrativo), invasión vascular macroscópica, distancia a márgenes de resección. Disección linfoganglionar exhaustiva.

3. **Toma de muestras:** Sección completa del tumor documentando las zonas de máxima infiltración en la pared. Secciones de todas las lesiones macroscópicas, márgenes de resección, pared normal y ganglios.
4. **Estudio microscópico:** Los más frecuentes son los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados de células pequeñas y de células grandes asociados o no a un carcinoma escamoso o un adenocarcinoma (MANEC: carcinoma mixto adeno-neuroendocrino). La morfología es similar a la contrapartida pulmonar, los de células pequeñas están constituidos por sábanas y nidos de células redondas o fusiformes con mínima cantidad de citoplasma y cromatina en sal y pimienta sin nucleolo. El índice mitótico es alto (más de 10 mitosis por 10/CGA). Suele haber necrosis, extensa o focal. En las muestras endoscópicas se produce artefacto por aplastamiento característico. En las piezas es frecuente la invasión linfovascular. Los de células grandes tienen también crecimiento difuso o en nidos pero las células son grandes, con bajo índice núcleo citoplasma, nucleolos patentes y cromatina grosera, y alto índice mitótico (más de 10 mitosis por 10/CGA).

Los tumores neuroendocrinos grados 1 y 2 aparecen en dos situaciones, como tumores grandes, nodulares o polipoides y en la forma de MANEC asociados a adenocarcinoma en el seno de un esófago de Barrett acompañándose, en estos casos, de hiperplasia neuroendocrina en la mucosa metaplásica. Tienen el mismo aspecto organoide del resto de los TNE gastroenteropancreáticos. Habitualmente muestran patrón insular con estructuras sólidas o cribiformes formadas por células con escasa atipia y un fenotipo de célula enterocromafín-like. La gradación se hace como en el resto de los TNE-GEP.

5. **Inmunohistoquímica** para confirmar el diagnóstico. Como en el resto de los TNE-GEP: sinaptofisina y cromogranina. Adicionalmente se pueden añadir otros como CD56. El Ki67 es imprescindible para valorar el índice proliferativo.

#### 6. Estadificación pTNM 8ª Edición AJCC, 2017.

<b>T</b>	<b>Tumor</b>
Tx	No se puede evaluar el tumor primario.
T0	No existe evidencia de tumor primario
Tis	Neoplasia intraepitelial
T1	Invasión de lamina propia, muscularis mucosae o submucosa
T1a	Invasión de lamina propia o muscularis mucosae
T1b	Invasión de la submucosa
T2	Invasión de la muscular propia
T3	Invasión de la adventicia
T4	Invasión de estructuras adyacentes
T4a	Invasión de pleura, pericardio, vena ácigos, diafragma o peritoneo
T4b	Invasión de otras estructuras adyacentes como aorta, cuerpo vertebral o vía aérea
<b>N</b>	<b>Ganglios linfáticos</b>
Nx	No se pueden evaluar
N0	No metástasis linfoganglionares
N1	Metástasis en 1-2 ganglios linfáticos
N2	Metástasis en 3-6 ganglios linfáticos
N3	Metástasis en 7 o más ganglios linfáticos
<b>M</b>	<b>Metástasis a distancia</b>
M0	No metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia

**7. Informe de Anatomía Patológica:** debe contener lo siguiente:

- **Localización de la muestra:** esófago, unión esofagogástrica
- **Procedimiento:** endoscopia, esofagectomía, esofagogastrectomía
- **Localización del tumor:** esófago superior, medio o inferior, unión esofagogástrica
- **Tamaño tumoral**
- **Tipo histológico:** tumor neuroendocrino, carcinoma neuroendocrino de células pequeñas o de células grandes.
- **Grado histológico:** G1, G2 o G3
- **Número de mitosis por 10 CGA.**
- **Extensión microscópica del tumor:** corion, muscularis mucosae, submucosa, muscular propia, adventicia, órganos adyacentes.
- **Bordes:** proximal, distal, circunferencial, profundo (en resecciones endoscópicas).
- **Invasión linfovascular.**
- **Invasión perineural**
- **Número de ganglios linfáticos aislados.**
- **Número de ganglios linfáticos afectados.**
- **TNM (AJCC) 2017. (8ª Edición)**
- **Marcadores neuroendocrinos:** cromogranina, sinaptofisina, otros (ej. CD56).
- **Ki-67:** Cuantificación (ver gradación)
- **Otros:** esófago de Barrett. MANEC.

**V. TUMORES NEUROENDOCRINOS GÁSTRICOS**

Luis Ortega

1. **Estudio intraoperatorio:** No suele realizarse, aunque en ocasiones se utiliza para valorar márgenes de resección.
2. **Estudio macroscópico:** procedimiento realizado, localización, tamaño y focalidad (únicos o múltiples). Extensión macroscópica e invasión de órganos adyacentes y tipo de crecimiento (expansivo, infiltrativo), invasión vascular macroscópica, distancia a márgenes de resección. Disección linfoganglionar exhaustiva.
3. **Toma de muestras:** Sección completa del tumor documentando las zonas de máxima infiltración en la pared. Secciones de todas las lesiones macroscópicas, secciones de cuerpo y antro normales (si incluidos en la pieza), márgenes de resección y ganglios.
4. **Estudio microscópico:** Aunque los tumores neuroendocrinos gástricos se clasifican como el resto de los TNE GEP, según su índice mitótico y proliferativo cuantificado con ki67 en grados 1, 2 y 3, y MANEC, por sus características especiales se distinguen tres tipos clinicopatológicos: Tipo I, tumor neuroendocrino asociado a gastritis crónica atrófica (GCA); Tipo II, tumor neuroendocrino asociado a síndrome de Zollinger-Ellison y MEN-1 y Tipo III, tumor neuroendocrino esporádico. La clasificación de la OMS, además, incluye otros TNE que de forma excepcional pueden ser secretores de serotonina, gastrina o ACTH.  
Morfológicamente están constituidos por proliferaciones de células enterocromafín-like (ECL). Los TNE tipos I y II suelen ser grado 1, formados por nidos pequeños de estructura monomorfa trabecular y microlobulillar, de células monomorfas sin atipias y prácticamente sin mitosis con angioinvasión excepcional. Los tipo III suelen ser más atípicos y corresponder a un grado 2.

Los TNE tipo I son, por lo general, menores de 1 cm, multicéntricos, polipoides o intramucosos y limitados a mucosa o submucosa. Los TNE tipo II son, también, lesiones polipoides en cuerpo y fundus,



menores de 2 cm, multicéntricos y limitados a mucosa o submucosa. Los tumores grandes (>2 cm), que invaden capa muscular, con angioinvasión o con síndrome de Zollinger-Ellison y MEN-1 de larga evolución pueden tener un comportamiento maligno con metástasis linfoganglionares y a distancia. Los TNE tipo III no muestran localización predilecta, son lesiones polipoideas o ulceradas y suelen ser grandes (mayores de 2 cm), con rasgos y comportamiento más agresivo que los anteriores.

En los TNE tipos I y II secundarios a hipergastrinemia se pueden encontrar una serie de lesiones proliferativas precursoras en la mucosa corporal y fúndica que forman un espectro continuo desde cambios hiperplásicos a TNE: hiperplasia, displasia, microtumor endocrino y TNE. En las lesiones tipo I, asociadas a GCA, la mucosa astral muestra hiperplasia de células G.

En los TNE gástricos, especialmente si son múltiples y grado 1 debemos descartar que asienten sobre una gastritis crónica atrófica o que estén asociados a un síndrome de Zollinger-Ellison por la presencia de un gastrinoma (más frecuentemente duodenal).

Además de los anteriores, hay carcinomas neuroendocrinos (CNE) grado 3 y MANEC. El CNE se da en cualquier parte del estómago, generalmente grande (más de 4 cm.), transmural, constituido por trabéculas grandes, mal formadas y nidos de células anaplásicas, redondeadas, poliédricas o fusiformes, con frecuente necrosis e invasión linfovascular y perineural. Hay variantes de células pequeñas y de células grandes. La OMS no establece criterios cuantitativos de cuando denominar a un carcinoma gástrico de células grandes como neuroendocrino. Para algunos autores al menos el 50% de la lesión tiene que expresar marcadores neuroendocrinos.

Los MANEC gástricos son raros combinan adenocarcinomas con TNE, raramente, y más frecuentemente con CNE, especialmente de células grandes. Según los criterios de la OMS al menos el 30% de la neoplasia tiene que mostrar diferenciación neuroendocrina para establecer el diagnóstico.

5. **Inmunohistoquímica** para confirmar el diagnóstico. Como en el resto de los TNE-GEP: sinaptofisina y cromogranina. Adicionalmente se pueden añadir otros como CD56. El Ki67 es imprescindible para valorar el índice proliferativo. En el caso de GCA se puede utilizar la gastrina para evidenciar la hiperplasia de células G antrales.

6. **Estadificación pTNM 8ª Edición AJCC, 2017.**

	AJCC	ENETS
Tx	No evaluable	No evaluable
T0	No evidencia de tumor primario	No evidencia de tumor primario
Tis	No reconoce la categoría	Tumor in situ <0.5 mm
T1	Tumor invade lamina propia o submucosa y es menor o igual a 1 cm	Tumor invade lamina propia o submucosa y es menor o igual a 1 cm
T2	Tumor invade capa muscular ó es mayor de 1 cm	Tumor invade capa muscular ó es mayor de 1 cm
T3	Tumor invade subserosa sin penetrar la serosa	Tumor atraviesa la serosa
T4	Tumor invade serosa u otros órganos o estructuras adyacentes	Tumor invade estructuras adyacentes

En caso de tumores múltiples (AJCC) añadir m y estatificar el grado más alto: eJT3(m). También en vez de m se puede poner el número de lesiones, ej. En el caso anterior si eran dos las lesiones se podría poner: T3(2).

<b>N</b>	<b>Ganglios linfáticos</b>
N0	No metástasis linfoganglionares
N1	Si metástasis linfoganglionares
<b>M</b>	<b>Metástasis</b>
M0	No metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia
M1a	Metástasis solo en hígado
M1b	Metástasis en al menos una localización extrahepática
M1c	Metástasis hepáticas y extrahepáticas

**7. Informe de Anatomía Patológica:** debe contener lo siguiente:

- **Localización de la muestra:** cardias, fundus, cuerpo, antro, píloro.
- **Procedimiento:** endoscopia, gastrectomía subtotal (proximal, distal, otra), gastrectomía total.
- **Localización del tumor:** cardias, fundus (pared anterior, pared posterior), cuerpo (pared anterior, pared posterior, curvatura menor, curvatura mayor), antro (pared anterior, pared posterior, curvatura menor, curvatura mayor), píloro.
- **Tamaño tumoral**
- **Focalidad tumoral:** unifocal, multifocal
- **Tipo histológico:** tumor neuroendocrino, carcinoma neuroendocrino de células pequeñas o de células grandes.
- **Grado histológico:** G1, G2 o G3
- **Número de mitosis por 10 CGA.**
- **Extensión microscópica del tumor:** corion, muscularis mucosae, submucosa, muscular propia, serosa, órganos adyacentes.
- **Bordes:** proximal, distal, circunferencial (omento), profundo (en resecciones endoscópicas).
- **Invasión linfovascular.**
- **Invasión perineural.**
- **Número de ganglios linfáticos aislados.**
- **Número de ganglios linfáticos afectados.**
- **TNM :** ver estadificación AJCC 8ª edición. 2017.
- **Marcadores neuroendocrinos:** cromogranina, sinaptofisina, otros.
- **Ki-67:** cuantificación (ver gradación)
- **Otros:** gastritis crónica atrófica, hiperplasia neuroendocrina en cuerpo y fundus, hiperplasia de células G en antro, Zollinger-Ellison, MANEC

## **VI. NEOPLASIAS NEUROENDOCRINAS DE INTESTINO DELGADO**

(Duodeno no ampulares/yeyuno proximal y yeyuno distal/íleon)

**A. Veiga Barreiro, J. Pombo Otero, Á. Concha López.**

### **1. CONSIDERACIONES GENERALES**

De manera histórica las neoplasias neuroendocrinas (NNE) de intestino delgado han sido consideradas como un grupo homogéneo de tumores, sin establecerse diferencias significativas en base a su localización. Aunque es evidente que comparten características morfológicas, método de gradación e incluso sistema de estadiaje patológico, debemos aceptar que, cuando hablamos de tumores neuroendocrinos (TNE) bien diferenciados, existen diferencias significativas de supervivencia a favor de los tumores duodenales y de yeyuno "alto" (los primeros 50 cms desde el ligamento duodenoyeyunal) frente a los tumores ileales y de

yeyuno “bajo”. Las **NNE (Tumores y Carcinomas)** con origen en yeyuno-íleon representan, como grupo, más del 40% de todas las neoplasias del intestino delgado. Las neoplasias con origen en el íleon terminal son, con mucho, las más frecuentes, diagnosticándose en un alto porcentaje de casos en un estadio avanzado con metástasis ganglionares y/o hepáticas. La determinación en sangre de cromogranina A es una prueba altamente sensible para el diagnóstico de estas lesiones en cualquier localización y ha demostrado tener significado pronóstico, siendo una buena alternativa a la determinación de 5-HIAA en orina, tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de los pacientes.

## 2. INFORMACIÓN DIAGNÓSTICA

Cuando hablamos de **TNE**, debemos tener en cuenta que los localizados en **duodeno-yeyuno proximal** son, en general, poco agresivos. Suelen presentarse como lesiones únicas y polipoides de menos de 2 cm. de diámetro. Alrededor de un 10% de los gastrinomas presentan un curso más agresivo, asociado a mayor grado de invasión tumoral y a la presencia de metástasis ganglionares. En este sentido, es importante tener en cuenta que los tumores asociados a síndrome de Zollinger-Ellison presentan características agresivas en aproximadamente la mitad de los casos, tanto si se asocian a MEN-1 como, aún en mayor medida, si son esporádicos. **Los TNE de yeyuno distal-íleon** son múltiples en aproximadamente el 25-30% de los casos y se diagnostican frecuentemente en el contexto de un paciente metastásico o, de manera incidental, en una colonoscopia de rutina. En menor medida el diagnóstico se lleva a cabo con la aparición de síntomas derivados de obstrucción o sangrado intestinal. Los síntomas derivados del síndrome carcinoide (diarrea, flushing, “carcinoid heart disease”) se asocian a enfermedad metastásica que, en más del 95% de los casos, es de localización hepática.

## 3. ESTUDIO MACROSCÓPICO Y TOMA DE MUESTRAS

En el estudio macroscópico de las piezas de resección intestinal es importante realizar un examen exhaustivo visual acompañado de la palpación de la pieza en busca otros tumores. Este método es superior a cualquier técnica de imagen preoperatoria para detectar lesiones múltiples y está especialmente indicada en localización “distal”. La información macroscópica debe incluir el número de tumores, el diámetro máximo, el nivel de extensión local, la localización, la distancia a los márgenes de resección y la posible presencia de lesiones en el tejido adiposo mesentérico que, en casos, pueden mostrar un mayor tamaño que la lesión primaria. Se recomienda una sección panorámica de todo el diámetro máximo con toma de muestras en función del tamaño de la lesión. También se recomienda toma de muestras de cualquier área de interés, del margen de resección y del parénquima no tumoral. Al igual que en el tallado de neoplasia exocrinas del tubo intestinal se deben muestrear de manera amplia los ganglios linfáticos mesentéricos.

## 4. ESTUDIO MICROSCÓPICO

Es recomendable que el primer paso del estudio microscópico vaya encaminado a establecer la diferenciación tumoral, separando las neoplasias en dos grandes grupos (Tumores bien diferenciados vs Carcinomas neuroendocrinos). Los **TNE** bien diferenciados se encuentran constituidos por células que recuerdan morfológicamente a las células neuroendocrinas presentes de manera fisiológica a lo largo de todo el tracto gastrointestinal. Observaremos la típica monotonía nuclear y los característicos núcleos en sal y pimienta aceptando cierto grado de pleomorfismo nuclear y la presencia de nucleolos poco evidentes. Las células tumorales se disponen fundamentalmente en forma de nidos o trabéculas aunque es relativamente frecuente encontrar áreas con una arquitectura sólida, siendo menos frecuente el patrón pseudoglandular. Los **carcinomas neuroendocrinos** pueden ser de célula pequeña o de célula grande y con frecuencia se asocian a áreas de necrosis tumoral. Debemos tener en cuenta la existencia de **carcinomas mixtos** con diferenciación endocrina/glandular (MANEC). Para su diagnóstico es preciso que cada uno de los componentes represente al menos un 30% del volumen tumoral total.

Para confirmar la naturaleza de las lesiones es recomendable el empleo de marcadores generales de diferenciación neuroendocrina como sinaptofisina y cromogranina. No es necesario completar el estudio

con marcadores hormonales ya que el diagnóstico de tumor funcionante se define por la sintomatología clínica y la serología. **Es imprescindible**, para valorar el grado histológico de las lesiones, establecer el índice proliferativo. Para ello valoraremos la inmunotinción nuclear de Ki67 en las células neoplásicas en las áreas con mayor actividad (2000 células tumorales si esto es posible) graduando las lesiones según la propuesta de la ENETS incorporada por la OMS en 2010. El conteo de mitosis es menos preciso y, en todo caso, si existe discordancia entre ambos métodos, debemos graduar la lesión en base al que ofrezca mayor grado. El estudio microscópico se completa con el estudio del grado de invasión local, imágenes de angioinvasión y/o invasión perineural, ganglios linfáticos, márgenes quirúrgicos de resección (proximal, distal y mesentérico) y de la presencia de “depósitos tumorales”.

Neoplasias neuroendocrinas de intestino delgado OMS 2010
Tumor neuroendocrino (NET): NETs grados 1 y 2
Carcinoma neuroendocrino (NEC): NEC de célula grande o pequeña
Carcinoma mixto adenoneuroendocrino (MANEC)
Tumores neuroendocrinos (NET) productores (somatostatina, Células EC-Serotonina, Células L-PP/PPY y Glucagón-like)
Gastrinoma
Paraganglioma gangliocítico

## 5. ESTADIFICACIÓN pTNM

**Tumor primario (pT):** Para los TNE hay dos sistemas de estadificación, el propuesto por la ENETS (europeo) y el propuesto por la AJCC/UICC (americano), que no difieren en esta localización.

Tx	El tumor primario no puede ser evaluado.
T0	Sin evidencia de tumor primario
T1	Tumor de 1 cm o menos que invade lámina propia o submucosa
T2	Tumor de más de 1 cm o que invade muscular propia
T3	Duodeno y yeyuno proximal: invasión de páncreas o retroperitoneo/tejido adiposo peripancreático. Yeyuno distal e ileal: invasión de subserosa.
T4	Tumor invade peritoneo (ENETS)/perfora serosa (AJCC) u otros órganos/estructuras adyacentes

**Ganglios linfáticos regionales (pN):** La *8th edition del AJCC Cancer Staging Manual* incorpora modificaciones importantes en lo relativo a la estadificación ganglionar. Mientras que para los tumores duodenales se mantiene la estadificación anterior (pNx: Los ganglios linfáticos no pueden ser evaluados; pN0: Sin evidencia de metástasis ganglionares; pN1: Metástasis en ganglios linfáticos regionales), **para los tumores de yeyuno-íleon se incorpora una nueva categoría que tiene en cuenta la presencia de masas mesentéricas y el número de ganglios metastatizados:**

Nx	Los ganglios linfáticos no pueden ser evaluados
N0	Sin evidencia de metástasis ganglionares
N1	Metástasis en ganglios regionales en número menor de 12
N2	Masa/s mesentérica/s grande/s (>2 cm) y/o depósitos nodales extensos (12 o más), especialmente aquellos en relación con los vasos mesentéricos superiores.

**Nota:** Para los tumores "proximales" los ganglios linfáticos regionales incluyen: duodenales, pancreatoduodenales, infra pilóricos, gastroduodenales, pilóricos, arteria mesentérica superior y ganglios peri colédoco. **Las metástasis en ganglios celíacos deben de ser consideradas como metástasis a distancia.** En los tumores "distales" los ganglios regionales son los cecales posteriores (en tumores ileales), mesentéricos superiores y nódulos mesentéricos (NOS). Cualquier ganglio afectado fuera de los territorios regionales debe ser considerado como una metástasis a distancia y categorizado como pM1b.

**Metástasis a distancia (pM): (8th edition del AJCC Cancer Staging Manual):**

M0	Sin evidencia de metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia: <ul style="list-style-type: none"> <li>- M1a: Limitadas al hígado</li> <li>- M1b: Metástasis en al menos una localización extrahepática (pulmón, ovario, ganglios linfáticos no regionales, peritoneo, hueso)</li> <li>- M1c: Metástasis hepáticas y extrahepáticas.</li> </ul>

Para el estadiaje de los carcinomas neuroendocrinos (NEC) y de los carcinomas mixtos (MANEC) debemos emplear el pTNM basado en la AJCC/UICC para carcinomas invasivos de intestino delgado.

**6. EJEMPLO DE INFORME ANATOMOPATOLÓGICO:**

- TUMOR NEUROENDOCRINO BIEN DIFERENCIADO/CARCINOMA NEUROENDOCRINO POCO DIFERENCIADO, GRADO 1;2;3 (ki-67: %), DE cm. QUE INFILTRA...
- PRESENCIA DE INVASIÓN LINFOVASCULAR/PERINEURAL.
- N° GANGLIOS AISLADOS/N° METASTATIZADOS.
- MÁRGENES DE RESECCIÓN (Proximal, distal y mesentérico)
- pTNM
- Comentarios y notas sobre aspectos relevantes o particulares del caso.

**VII. NEOPLASIAS NEUROENDOCRINAS APENDICULARES**

J. Pombo Otero, A. Veiga Barreiro, Á Concha López

**1. CONSIDERACIONES GENERALES**

Las neoplasias neuroendocrinas (NNE) apendiculares representan alrededor del 30% de las NNE gastrointestinales, constituyendo la neoplasia más frecuente del apéndice (32%-57% del total). Afectan a un amplio espectro de edad, con un pico en adultos jóvenes y un predominio en el sexo femenino. Se localizan fundamentalmente en la punta apendicular y la mayoría corresponden a tumores neuroendocrinos (TNE) grado 1. La mayor parte son asintomáticas y se descubren de manera incidental en los especímenes de apendicectomía. El pronóstico es, en general, excelente.

## 2. ESTUDIO MACROSCÓPICO

En la mayor parte de los casos nos vamos a encontrar con un hallazgo incidental en piezas de apendicectomía. Si detectamos la lesión en el estudio macroscópico debemos hacer constar su localización concreta siendo recomendable la inclusión total del órgano con márgenes de resección cecal y mesoapendicular. Si no es así debemos proceder al retallado de la pieza. **El tamaño tumoral es el factor predictivo pronóstico más importante por lo que debemos ser cuidadosos en la medida tridimensional.** Para los TNE apendiculares de 1 cm o menos la apendicectomía es suficiente. En los TNE que miden entre 1 y 2 cm se deben tener en cuenta otros aspectos antes de determinar la actitud quirúrgica a seguir (invasión en profundidad del tumor, o linfovascular, tipo histológico,...). Los TNE de más de 2 cm y los que presentan invasión del mesoapéndice se han relacionado con metástasis ganglionares y requerirán cirugías más amplias. En estas piezas es de suma importancia realizar un muestreo ganglionar suficiente así como identificar posibles depósitos tumorales mesentéricos.

## 3. ESTUDIO MICROSCÓPICO

La mayoría de los TNE apendiculares se originan en células enterocromafines y están compuestos por pequeños nidos de células con núcleos redondos, cromatina granular, nucleolo poco aparente y citoplasma eosinófilo con una arquitectura acinar o trabecular. La infiltración a través de la muscular propia hasta la subserosa, así como la invasión linfática y perineural es común pero no tiene significado pronóstico. Un subtipo histológico de especial interés es el **TNE de células calciformes**. Es una variante más agresiva con afectación concéntrica de la pared apendicular que puede presentarse con diseminación peritoneal y/o ovárica y evolucionar a **carcinoma mixto adenoneuroendocrino (MANEC)**. Por el contrario, el **TNE tubular** muestra un curso indolente pero plantea en ocasiones problemas de diagnóstico diferencial con un adenocarcinoma metastásico. Los **carcinomas neuroendocrinos** son tumores infrecuentes de comportamiento agresivo similar al resto de localizaciones en el tracto gastrointestinal.

Al igual que en el resto de localizaciones tratadas en este capítulo es imprescindible valorar el grado histológico de las lesiones y recomendable completar el estudio con el empleo de marcadores neuroendocrinos (sinaptofisina y cromogranina). Debemos hacer referencia a la existencia de invasión vascular y/o perineural, el cociente de ganglios afectados/ganglios totales, el estado de los márgenes quirúrgicos y extensión local de la invasión.

Neoplasias neuroendocrinas del apéndice OMS 2010
Tumor neuroendocrino (NET): NET grados 1 y 2
Carcinoma neuroendocrino (NEC): NEC de célula grande y de célula pequeña
Carcinoma mixto adenoneuroendocrino (MANEC)
Tumores neuroendocrinos (NET) productores: Células EC-Serotonina, Células L-PP/PPY y Glucagón-like
Carcinoide de células calciformes
Carcinoide tubular

## 4. ESTADIFICACIÓN pTNM

**Tumor primario (pT):** Existen dos sistemas de estadificación, el propuesto por la ENETS (europeo) y el propuesto por la AJCC/UICC (americano), que son distintos en esta localización por lo que, en nuestro informe, debemos especificar el sistema empleado.

T	ENETS	AJCC
Tx	Tumor primario no puede ser evaluado	Tumor primario no puede ser evaluado
T0	No evidencia de tumor primario	No evidencia de tumor primario
T1	Tumor $\leq 1$ cm que invade submucosa y muscular propia	Tumor $\leq 2$ cm
T2	Tumor $\leq 2$ cm que invade submucosa y muscular propia y/o mínimamente ( $\leq 3$ mm) invade subserosa/mesoapéndice	Tumor $> 2-4$ cm
T3	Tumor $> 2$ cm y/o invade $>3$ mm subserosa/mesoapéndice	Tumor $> 4$ cm ó con invasión subserosa ó invasión del mesoapéndice
T4	Tumor invade estructuras adyacentes	Tumor perfora peritoneo o invade otros órganos o estructuras

**Ganglios linfáticos regionales (pN) y metástasis a distancia (pM):** La 8th edition del AJCC Cancer Staging mantiene la estadificación pN (pNx: Los ganglios linfáticos no pueden ser evaluados; pN0: Sin evidencia de metástasis ganglionares; pN1: Metástasis en ganglios linfáticos regionales) pero introduce novedades en la estadificación de las metástasis a distancia:

M0	Sin evidencia de metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia: <ul style="list-style-type: none"> <li>- M1a: Limitadas al hígado</li> <li>- M1b: Metástasis en al menos una localización extrahepática (pulmón, ovario, ganglios linfáticos no regionales, peritoneo, hueso)</li> <li>- M1c: Metástasis hepáticas y extrahepáticas.</li> </ul>

#### 5. EJEMPLO DE INFORME ANATOMOPATOLÓGICO:

- TUMOR NEUROENDOCRINO BIEN DIFERENCIADO/CARCINOMA NEUROENDOCRINO POCO DIFERENCIADO, GRADO 1;2;3 (ki-67: %), DE cm. QUE INFILTRA...
- PRESENCIA DE INVASIÓN LINFOVASCULAR/PERINEURAL.
- N° GANGLIOS AISLADOS/N° METASTATIZADOS.
- MÁRGENES DE RESECCIÓN (Proximal y mesoapendicular)
- pTNM
- Comentarios y notas sobre aspectos relevantes o particulares del caso.

### VIII. TUMORES NEUROENDOCRINOS COLORRECTALES

Teresa Serrano, Antonio Ferrández

Al igual que en las localizaciones anteriores podemos encontrar tumores neuroendocrinos bien diferenciados, carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados y carcinomas adenoneuroendocrinos mixtos (MANECs). Sin embargo, cada sublocalización tiene algunas peculiaridades. **En el colon casi la mitad de los tumores neuroendocrinos bien diferenciados están localizados en el ciego**, suelen ser de gran tamaño y su



comportamiento es agresivo. Sin embargo, **el 50% de los tumores neuroendocrinos bien diferenciados de recto son asintomáticos**, se identifican durante una endoscopia de rutina y más de dos tercios son inferiores a 0.5 cm de diámetro en el momento del diagnóstico.

Los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados pueden ser de célula grande o de célula pequeña, y hay que tener en cuenta que casi la mitad de los localizados en el tracto gastrointestinal se asocian a un componente de adenoma o de adenocarcinoma, es decir, corresponden a **carcinomas adenoneuroendocrinos mixtos (MANECs)**.

Aunque por definición para designar a una neoplasia como carcinoma adenoneuroendocrino mixto cada componente tiene que representar un 30% de las células tumorales, es aconsejable, si no se alcanza este porcentaje, que al menos quede reflejado en el informe la presencia de un componente neuroendocrino, especialmente si es poco diferenciado por la repercusión en el pronóstico.

**Estudio peroperatorio:** No suele realizarse de rutina como en el resto de resecciones colorrectales por carcinoma.

**Estudio macroscópico:** No difiere del estudio realizado para las resecciones colorrectales convencionales por carcinoma. Es importante especificar la localización del tumor, su diámetro máximo, el nivel de infiltración y la distancia a los márgenes de resección.

**Estudio microscópico:** Al igual que en los anteriores apartados hay que separar según la morfología los tumores neuroendocrinos bien diferenciados de los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados, y posteriormente dar el grado histológico en función del Ki67. Se recomienda especificar el porcentaje exacto de Ki67 y sobre cuantas células se ha realizado el conteo. Hay que tener en cuenta que se están describiendo tumores neuroendocrinos bien diferenciados con un Ki67 superior al 20%, es decir grado 3.

**Estudio inmunohistoquímico:** Todos los tumores neuroendocrinos colorrectales bien diferenciados expresan CDX2 y sinaptofisina, pero hay que destacar que **el 50% de los tumores neuroendocrinos bien diferenciados rectales son negativos para la cromogranina**.

Los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados colorrectales pueden perder la expresión de CK20 y de CDX2, pero se identifican por la expresión de la panqueratina AE1-AE3 y de sinaptofisina.

También es a destacar que **para identificar los carcinomas adenoneuroendocrinos mixtos es necesario realizar de rutina una tinción inmunohistoquímica con sinaptofisina siempre que identifiquemos un componente de carcinoma poco diferenciado en el tracto gastrointestinal**. Es difícil identificarlo sino se va a buscar específicamente ya que se tiende a valorar como un área poco diferenciada de una adenocarcinoma convencional. Dicho componente de carcinoma neuroendocrino poco diferenciado suele marcar el pronóstico y el paciente podría beneficiarse de un tratamiento basado en el platino en el caso de necesitar tratamiento adyuvante.

## ESTADIFICACIÓN pTNM

**Tumor primario (pT):** Para los TNE hay dos sistemas de estadificación, el propuesto por la ENETS (europeo) y el propuesto por la AJCC/UICC (americano), que no difieren en la localización colorrectal.

T1a Tumor invade lámina propia o submucosa e <1 cm

T1b Tumor invade lámina propia o submucosa y mide entre 1 y 2 cm

T2 Tumor invade la capa muscular propia o es > 2cm

T3 Tumor invade la subserosa o los tejidos pericólicos o perirrectales no peritonizados

T4 Tumor perfora el peritoneo visceral o invade otros órganos

**Ganglios linfáticos regionales (pN):** La 8th edition del AJCC Cancer Staging Manual incluye únicamente pNX (Los ganglios no pueden ser evaluados), pN0 (Sin evidencia de metástasis ganglionares) y pN1 (Metástasis en ganglios linfáticos regionales, independientemente del número).

## Informe anatomopatológico:

TUMOR NEUROENDOCRINO BIEN DIFERENCIADO/CARCINOMA NEUROENDOCRINO POCO DIFERENCIADO, GRADO \_\_\_ (Ki67 \_\_\_ %), de \_\_\_ cm.



PRESENCIA DE INVASIÓN VASCULAR Y/O PERINEURAL  
MÁRGENES DE RESECCIÓN  
METÁSTASIS GANGLIONARES  
pTNM

### Bibliografía

1. Klimstra DS, Arnold R, Capella C, Hruban RH, Klöppel G, Komminoth P, Solcia E, Rindi. Neuroendocrine neoplasms of the pancreas. In: Bosman F, Carneiro F, Hruban RH, Theise N, eds. WHO Classification of Tumors of the digestive System. Lyon: IARC Press; 2010: 322-326.
2. McCall Ch, Shi Ch, Cornish T, Klimstra D, Tang L, Basturk O, Mun L, Ellison T, Wolfrang C, Choti M, Schlick R Edil B and Hruban R. Grading of well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors is improved by the inclusion of both Ki67 proliferative index and mitotic rate. *Am J SurgPathol* 2013; 37: 1671-1677.
3. Tang L, Basturk O, Sue J and Klimstra D. A practical approach to the classification of WHO Grade 3 (G3) Well-differentiated Neuroendocrine Tumor (WD-NET) and Poorly-differentiated Neuroendocrine Carcinoma (PD-NEC) of the Pancreas. *AmJSurgPathol* 2016; 40:1192-1202.
4. La Rosa S, Marando A, Sessa F and Capella C. Mixed adenoneuroendocrine carcinoma (MANECs) of the gastrointestinal tract: an update. *Cancers* 2012; 4: 11-30.
5. Niederle MB<sup>1</sup>, Hackl M, Kaserer K, Niederle B. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: the current incidence and staging based on the WHO and European Neuroendocrine Tumour Society classification: an analysis based on prospectively collected parameters. *EndocrRelat Cancer*. 2010 Oct 5;17(4):909-18
6. Fraenkel M, Kim M, Faggiano A, de Herder WW, Valk GD; Knowledge NETwork. Incidence of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: a systematic review of the literature. *EndocrRelat Cancer*. 2014 May 6;21(3):R153-63
7. Pasiaka JL. Carcinoid tumors. *SurgClin North Am*. 2009 Oct;89(5):1123-37
8. Pape UF, Berndt U, Müller-Nordhorn J, Böhmig M, Roll S, Koch M, Willich SN, Wiedenmann B. Prognostic factors of long-term outcome in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Endocr Relat Cancer*. 2008 Dec;15(4):1083-97
9. Ahmed A, Turner G, King B, Jones L, Culliford D, McCance D, Ardill J, Johnston BT, Poston G, Rees M, Buxton-Thomas M, Caplin M, Ramage JK. Midgut neuroendocrine tumours with liver metastases: results of the UKINETS study. *EndocrRelatCancer*. 2009 Sep;16(3):885-94
10. Arnold R, Wilke A, Rinke A, Mayer C, Kann PH, Klose KJ, Scherag A, Hahmann M, Müller HH, Barth P. Plasma chromogranin A as marker for survival in patients with metastatic endocrine gastroenteropancreatic tumors. *ClinGastroenterolHepatol*. 2008 Jul;6(7):820-7
11. Korse CM<sup>1</sup>, Bonfrer JM, Aaronson NK, Hart AA, Taal BG. Chromogranin A as an alternative to 5-hydroxyindoleacetic acid in the evaluation of symptoms during treatment of patients with neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology*. 2009;89(3):296-301

12. Pasquer A, Walter T, Hervieu V, Forestier J, Scoazec JY, Lombard-Bohas C, Poncet G. Surgical Management of Small Bowel Neuroendocrine Tumors: Specific Requirements and Their Impact on Staging and Prognosis. *Ann SurgOncol* 2015 May 27
13. Nadler A, Cukier M, Rowsell C, Kamali S, Feinberg Y, Singh S, Law CH. Ki-67 is a reliable pathological grading marker for neuroendocrine tumors. *Virchows Arch*. 2013 May;462(5):501-5
14. Srirajaskanthan R, Ahmed A, Prachialias A, Srinivasan P, Heaton N, Jervis N, Quaglia A, Vivian G, Ramage JK. ENETS TNM staging predicts prognosis in small bowel neuroendocrine tumours. *ISRN Oncology* 2013.
15. Jann H, Roll S, Couvelard A, Hentic O, Pavel M, Müller-Nordhorn J, Koch M, Röcken C, Rindi G, Ruszniewski P, Wiedenmann B, Pape UF. Neuroendocrine tumors of midgut and hindgut origin: tumor-node-metastasis classification determines clinical outcome. *Cancer*. 2011 Aug 1;117(15):3332-41

# Protocolo para el estudio de las piezas quirúrgicas por adenocarcinoma ductal y neoplasias mucinosas papilares intraductales de páncreas

María del Carmen Gómez Mateo<sup>1</sup>, Teresa Serrano Piñol<sup>2</sup>, Beatriz Madrigal Rubiales<sup>3</sup>, Antonio Ferrández Izquierdo<sup>4</sup>.

1 Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Donostia, San Sebastián

2 Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Bellvitge. Hospitalet de Llobregat

3 Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Río Ortega, Valladolid

4 Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario. Valencia

## ADENOCARCINOMA DUCTAL

### A. INTRODUCCIÓN

El cáncer de páncreas es la cuarta causa de muerte por cáncer en los países civilizados, con una media de supervivencia de sólo el 7% a los cinco años y se calcula que para el año 2020 será la segunda causa de muerte por cáncer. Actualmente el tratamiento quirúrgico se mantiene como la mejor terapia con fines curativos, pero solamente el 15-20% de los pacientes son susceptibles de cirugía en el momento del diagnóstico. Además, incluso en aquellos pacientes operados las recaídas son frecuentes y la curación es rara.

En las neoplasias pancreáticas, factores pronósticos importantes dependen del examen anatomopatológico de la pieza reseçada, como tamaño tumoral y localización, origen, grado de diferenciación, invasión linfocascular y perineural, infiltración ganglionar y afectación de los márgenes quirúrgicos.

Sin embargo, el valor real de muchos de estos factores se ha visto postergado por la gran variabilidad de nomenclaturas, terminologías y formas de manejo de las piezas quirúrgicas lo que resulta en datos no comparables y resultados dispares. El ejemplo más claro es la variación en la tasa de afectación de los márgenes quirúrgicos que oscila entre el 10 y el 85% en los trabajos publicados. A pesar de esto parece que se abre ante nosotros una nueva etapa y como explica la Dra. Verbeke, utilizando sus propias palabras *"we are entering in a new era in which meticulous and standardized pathology examination is a recognized prerequisite for obtaining robust and reproducible data. It highlights the responsibility, first and foremost of the profession of pathology, to ensure that high-quality pathology examination of pancreatic resection specimens becomes established practice"*.

El adenocarcinoma ductal pancreático (ADP) es el cáncer pancreático más frecuente. Los cánceres periampulares (ampulomas, adenocarcinoma de vía biliar distal (AVBD) y cánceres duodenales) se desarrollan en la misma área anatómica (cabeza pancreática) y por ello, con frecuencia se incluyen dentro de los mismos estudios de patología pancreática. Además, son extirpados con la misma técnica quirúrgica y por ello son

incluidos en el protocolo de tallado macroscópico junto a los ADP. De igual forma, estas consideraciones deben ser aplicadas a otros subtipos histológicos como las neoplasias mucinosas papilares intraductales (NMPI), la neoplasia túbulo-papilar intraductal (MTPI) y otras neoplasias quísticas pancreáticas.

Uno de los principales problemas que tiene el patólogo ante una pieza de duodenopancreatectomía cefálica cuando revisa la literatura científica al respecto es que existe una gran variedad de nombres para las diferentes regiones anatómicas de la misma, incluso para definir lo que son verdaderos márgenes de resección (donde el cirujano corta) o superficies anatómicas, en las que el cirujano interviene poco o nada. Para familiarizarse con la nomenclatura, presentamos en la tabla nº1 una revisión de los márgenes y superficies anatómicas que aparecen en la literatura.

Otro gran problema es que ni los diferentes autores ni siquiera las reconocidas y afamadas sociedades de patólogos se ponen de acuerdo en la manera de informar dichos márgenes de resección, como podemos ver a continuación:

- El Real Colegio de Patólogos (2010) incluye en su informe histopatológico los márgenes de transección (gástrico, duodenal, pancreático y vía biliar), los márgenes de disección (VMS, AMS, posterior) y la superficie anterior.
- El Real Colegio de Patólogos de Australasia (2014) recomienda informar la distancia a los siguientes márgenes/superficies: transección pancreática, AMS, margen posterior, surco de la VMS/vascular, margen anterior, margen de la vía biliar, margen proximal intestinal/gástrico, distal intestinal y otros márgenes/superficies.
- El Colegio Americano de Patólogos (2016) recomienda informar el margen posterior, margen uncinado (retroperitoneal/AMS), margen de la vía biliar, márgenes proximal and distal y otros márgenes (solamente si se pueden informar)). Las superficies anterior y posterior se informan en la extensión microscópica del tumor pero no en los márgenes de resección.

## B. INFORME PROTOCOLIZADO DE LAS PIEZAS DE CANCER PANCREATICO

El protocolo ideal debe ser fácilmente aplicable y preciso, bien comprensible para los clínicos y que aporte información relevante para el pronóstico y tratamiento (Tabla 7)

## C. EXAMEN MACROSCÓPICO

1. Comprobar los datos del paciente y con la pieza en fresco identificar el tipo de muestra: duodenopancreatectomía cefálica (DPC), pancreatectomía distal (PD) o pancreatectomía total (PT).
2. En las DPC identificar márgenes: los márgenes gastrointestinales y de la vía biliar son fácilmente identificables en la cara anterior, permitiendo identificar, así mismo, la superficie anterior. El margen del cuello pancreático (MCP) se observa en la visión posterior, donde se identifican también el MVMS, MAMS y margen posterior. Hay que indicar en el protocolo si la pieza incluye algún segmento vascular.
3. Abrir la pieza por el borde antimesentérico del duodeno y analizar la luz gastrointestinal para localizar cualquier posible lesión tumoral en la ampolla de Vater. Si no hay lesión, es aconsejable palpar la cabeza pancreática intentando localizar la tumoración (cuando la tumoración es evidente suele estar muy resaltado el surco de la VMS).
4. Si vamos a tomar muestras para el banco de tumores, necesitamos pintar todos los márgenes en diferentes colores, antes de cortar la pieza. En el caso contrario, los márgenes se pueden pintar después de la fijación.
5. La pieza debe permanecer, al menos, 24-48 horas, en formaldehído para permitir una correcta fijación y garantizar una buena consistencia al realizar las secciones.
6. Pintar los márgenes en diferentes colores: MCP, MVMS, MAMS y margen posterior. Si la pieza incluye un segmento vascular debe ser pintado con otro color y también es aconsejable pintar la superficie anterior.
7. Tomar muestras transversales de los márgenes gástrico, intestinal y de la vía biliar. El margen de resección pancreático se suele remitir para estudio intraoperatorio pero es conveniente incluir una sección transversal del margen de la pieza (MCP).

8. Realizar una sección, perpendicular al eje longitudinal del duodeno a través de la porción media de la ampolla de Vater (esta sección nos permitirá identificar lesiones neoplásicas en la propia ampolla o neoplasias pancreáticas o biliares que se extiendan has la misma) y continuar realizando cortes paralelos (de unos 5 mm) en ambas direcciones.
9. Identificar y medir el tumor y valorar su relación con las diferentes estructuras y márgenes, indicando la distancia a los mismos. Estas secciones pueden compararse con los estudios de imagen previos.
10. Tomar muestras representativas en relación a todos los márgenes. Si no se identifica tumor (puede ocurrir si se ha administrado quimioterapia neoadyuvante) hay que hacer un muestreo amplio.
11. Tomar, así mismo, muestras de la ampolla, páncreas no neoplásico y cualquier otra lesión observada.
12. Identificar los ganglios linfáticos de las diferentes cadenas. Se aconseja incluir los ganglios enteros excepto en aquellos casos que estén macroscópicamente infiltrados en los que solo hará falta una sección.
13. En las piezas de pancreatectomía distal, se actuará de igual manera, pintando las superficies anterior y posterior, tomando el margen de resección pancreático y realizando secciones perpendiculares al eje longitudinal del páncreas (cola).
14. En las piezas de pancreatectomía total, la única diferencia es que no habrá margen de resección pancreático.

#### **D. EXAMEN MICROSCÓPICO**

Los datos necesarios que se deben incluir en el informe son los siguientes:

1. Localización tumoral, subtipo histológico y grado según la última clasificación de la OMS (Tablas nº2 y 3)
2. Tamaño tumoral y extensión (infiltración del tejido adiposo, de la pared muscular duodenal u otros órganos).
3. Infiltración linfovascular y perineural.
4. Todos los ganglios linfáticos deben ser examinados, indicando, cuando sea posible, la cadena afecta. Los ganglios linfáticos regionales pueden ser agrupados según la Sociedad Japonesa de Páncreas (SJP) o la UICC (tabla nº 4). La extensión directa del tumor primario a los ganglios linfáticos es considerado metástasis según la AJCC (2009). Debe informarse el número total de ganglios aislados y el nº de ganglios infiltrados.
5. Debe informarse la distancia microscópica a cada margen (especialmente si es menor de 1-1,5 mm). Cuando la pieza incluye un fragmento vascular hay que indicar el nivel de infiltración de la pared y si hay células neoplásicas en la cara luminal.
6. Evaluación de la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante. A diferencia de otros tipos de cáncer, el valor de la respuesta patológica a la quimioterapia neoadyuvante en el cáncer pancreático todavía no está claro. El aumento de las piezas de resección tras tratamiento neoadyuvante exige una fuerte implicación de los patólogos en la valoración de la respuesta, a pesar de que no haya todavía una clasificación de consenso. En la tabla nº 5 mostramos las clasificaciones más frecuentemente utilizadas.
7. Se deben indicar, si existen, lesiones precursoras (PanIM) en el páncreas no neoplásico. El principal problema es cuando se observan en el margen de resección pancreático. En estos casos, la significancia del PanIN de bajo grado es incierta pero sí que es importante señalar la presencia de lesiones de alto grado.

#### **E. ESTADIAJE PATOLÓGICO DEL CÁNCER PANCREÁTICO**

En el caso del cáncer pancreático, algunos de los parámetros del estadiaje patológico, incluidos en la 7th de la clasificación TNM de la AJCC, son difíciles de aplicar en la práctica diaria, por esta razón se han propuesto algunos cambios importantes para la siguiente edición (ver tabla 6).

#### **F. PAPEL DE LA INTRAOPERATORIA EN EL CÁNCER PANCREÁTICO**

El estudio intraoperatorio mediante cortes de congelación se utiliza fundamentalmente para llegar al diagnóstico histológico (cuando no ha sido posible por otras técnicas), para valorar la operabilidad en el caso de posible diseminación locoregional (cualquier hallazgo incidental durante la cirugía que invalide el procedimiento) y para valorar los márgenes quirúrgicos.

Lo más común en la práctica diaria es la solicitud de estudio de los márgenes con la idea de conseguir una resección tumoral completa (R0). Los márgenes más importantes, lógicamente, son los vasculares (MVMS; MAMS) y posterior, debido a su alta incidencia de afectación, pero cuando estos son positivos poco puede ampliar el cirujano por lo que no tienen interés práctico. En nuestro medio, los márgenes que se estudian sistemáticamente son el de la vía biliar y el de resección pancreática (MCP). La afectación por adenocarcinoma infiltrante del MCP durante el estudio intraoperatorio puede conllevar una nueva sección o incluso la realización de una pancreatometomía total. La detección de lesiones precursoras (panIN o IPMN) en el margen es de dudosa relevancia. Si bien las últimas guías de consenso sugieren no informar la presencia de lesiones de bajo grado en el margen evaluado durante el acto quirúrgico, la detección de panIN o IPMN de alto grado es de gran importancia ya que debido a su estrecha relación con un componente invasor en vecindad implica la necesidad de ampliar la resección (siempre y cuando la morbilidad del paciente no sea mayor que el beneficio).

Hay que tener en cuenta, siempre, que las neoplasias pancreáticas se suelen acompañar de lesiones inflamatorias y acusada atrofia, lo que unido al artefacto del cauterio y el congelado pueden plantear grandes problemas de diagnóstico diferencial por lo que se recomienda tener un diálogo abierto y bidireccional con los cirujanos.

### NEOPLASIAS MUCINOSAS PAPILARES INTRADUCTALES

Klöppel y colaboradores introdujeron el término “neoplasias mucinosas papilares intraductales” (NMPI) en 1994. Se definen como neoplasias preinvasivas que forman masas que crecen dentro de los ductos pancreáticos. En la clasificación de la OMS (2010) se separan las NMPI de los microquistes incidentales y de las neoplasias intraepiteliales pancreáticas grandes (PanIN) (las NMPI tienen que ser superiores a 1 cm de diámetro). Las NMPIs se clasifican según el tipo citológico en gástrica, intestinal, pancreatobiliar y oncocítica. Estos tipos tienen diferente morfología, inmunohistoquímica y alteraciones genéticas. Las NMPIs pueden progresar a cánceres invasivos de tipos diferentes (ductal y coloide) y deben ser informados por separado. Dependiendo de su localización, las NMPI, se subdividen en neoplasia de ducto principal o periférico, con una capacidad infiltrativa diferente. El estudio anatomopatológico de las piezas de resección puede seguir los mismos principios de lo visto anteriormente para el ADP con ciertas especificaciones propias de las NMPI:

- a) **Tamaño de la lesión:** Se debe medir el diámetro de los quistes, para establecer correlación con las imágenes radiológicas, y el diámetro de las áreas sólidas encontradas porque estas pueden corresponder a nódulos neoplásicos intramurales o áreas de adenocarcinoma infiltrante. Hay que indicar, así mismo, si la lesión es unilocular o multilocular. Siempre conviene identificar el ducto principal y medir al diámetro, aunque puede ser difícil.
- b) **Grado de la NMPI:** Debe ser gradada como de alto y bajo grado. El grado final que debe informarse es el mayor y en los casos de alto grado el porcentaje (<25% del tumor, 25-75%, >75%).
- c) **Subtipos de NMPI:** Existen 4 tipos con diferentes vías carcinogénicas y variable potencial de malignización:
  - La mayoría de las NMPI de ductos periféricos son de tipo **gástrico**, caracterizados por papilas, muy similares al epitelio foveolar gástrico. Raramente se asocian a carcinoma invasivo y cuando ocurre es de tipo tubular (ductal):
  - La NMPI de tipo **intestinal** es similar a los adenomas de colon, caracterizada por arquitectura vellosa y mucina pálida que muestra positividad difusa para MUC2 y CDX2. Afecta típicamente al ducto principal y se suele asociar a carcinoma infiltrante en un tercio de los casos y suele ser de tipo coloide.
  - La NMPI **oncocítica** se suele presentar como lesiones quísticas grandes y multiloculares. Muestran una proliferación arborescente de células oncocíticas homogéneas y su asociación con carcinoma invasivo es muy rara.

- La NMPI de tipo **pancreatobiliar** son aquellas neoplasias constituidas por células cuboidales con atipias citológicas de alto grado y que no tienen las características de los tipos oncocítico y pancreatobiliar. Muchas de ellas pueden ser transformación de las de tipo gástrico y también comparten algunas características con las neoplasias tubulopapilares intraductales.

En algunos casos (15%), la NMPI tiene características que se solapan entre los diferentes tipo y se debe denominar "mixta".

**d) Evaluación e informe del carcinoma invasivo:** El factor pronóstico más importante de las NMPIs es la presencia de carcinoma infiltrante asociado. La supervivencia a los 5 años es del 90% cuando no asocian componente infiltrante mientras que el pronóstico es sombrío cuando si presentan carcinoma infiltrante asociado. La ausencia de carcinoma invasivo solamente podría ser excluida si se incluye en su totalidad las lesiones para estudio histológico, incluido el páncreas adyacente aparentemente normal. El comportamiento agresivo de algunas NMPI puede ser debido a que no se estudió el componente invasivo adecuadamente, por lo tanto el muestreo debe ser muy amplio.

**e) Tipo de carcinoma invasivo asociado:** Diferentes tipos de carcinoma pueden asociarse a la NMPI con diferente pronóstico. Aproximadamente el 50% de los casos son de tipo adenocarcinoma tubular (ductal), caracterizado por la presencia de estructuras tubulares de pequeño y mediano tamaño incluidas en abundante estroma fibroso. Este tipo se origina, a menudo, sobre las NMPI de tipo gástrico o pancreatobiliar. Este tipo suele tener un comportamiento agresivo, pero no tanto como los adenocarcinomas ductales pancreáticos convencionales. El otro 50%, son carcinomas coloides, caracterizados por invasión muconodular (nódulos de mucina estromal que incluyen escasos nidos de células carcinomatosas). Se originan típicamente de las NMPI de tipo intestinal o a partir de neoplasias mucinosas quísticas. El pronóstico de los carcinomas coloides es mejor que para los carcinomas tubulares. Se caracterizan por fuerte expresión de MUC2 y CDX2. Raramente otros tipos de carcinomas invasivos (oncocítico, sarcomatoide, neuroendocrino, etc) se pueden originar en las NMPI.

**f) Graduación del carcinoma invasivo:** El grado del carcinoma invasivo debe ser informado aparte del grado del componente no invasivo. Para la gradación del carcinoma tubular/ductal se emplea el mismo esquema que para los ADP convencionales. Para la gradación del carcinoma coloide no existen consensos actualmente. La mayoría son bien diferenciados, sin embargo algunos carcinomas mucinosos en el páncreas presentan gran celularidad, atipia y pleomorfismo. Estos últimos suelen ser más agresivos y debe descartarse carcinomas mucinosos no coloides (originados en la ampolla o en los ductos pancreáticos).

**g) Evaluación de otros parámetros:** El Colegio Americano de Patólogos recomienda informar: grado, invasión perineural, invasión vascular, etc.

**h) Estadaje:**

- En el estadiaje de los carcinomas ampliamente invasivos es recomendable usar los protocolos de la UICC/AJCC.
- *Estadio T:* Como en otros tipos de cáncer, el tamaño es uno de los factores pronósticos más importantes. Si es unifocal se recomienda medir el diámetro más grande y si es multifocal es recomendable medir el diámetro del tumor más grande y una media de los diámetros más pequeños.
- El término mínimamente invasivo (ampliamente utilizado en la bibliografía) debe ser eliminado y sustituido por:
  - i. pT1a:  $\leq 0,5$  cm
  - ii. pT1b:  $<0,5$  cm y  $\leq 1$  cm
  - iii. pT1c:  $\geq 1$  y  $\leq 2$  cm



- *Estadio N*: Es obligatorio el estudio de los ganglios linfáticos. Se recomienda seguir las mismas indicaciones que para el ADP.

**i) Peculiaridades/dificultades:**

- *Indeterminado (sospechoso) para invasión*: En algunos casos puede ser muy difícil distinguir entre verdadera invasión y pseudoinvasión. Para estos casos se debe utilizar el término de "indeterminado" para invasión" y se debe medir, así mismo, el tamaño de dicha área.
- *Carcinoma invasivo "derivado de" o "concomitante con" NMPI*: Está comprobado que hay diferencias biológicas y pronósticas en estos dos conceptos, por lo que la relación entre la NMPI y el componente invasivo debe estar documentada histológicamente (se debe confirmar la continuidad o discontinuidad del componente invasivo con la NMPI).
- *NMPI maligna*: Este término no debe ser usado.

**j) Definición y diagnóstico diferencial de las NMPI con sus imitadores**

- *PanINS grandes*: la NMPI de tipo gástrico tiene características morfológicas y moleculares que se solapan con los panINs. Para separarlas se emplea el criterio de tamaño (>1 cm = NMPI). Las de tipo intestinal y oncocítico no plantean estos problemas, aunque raramente sean inferiores a 1 cm.
- *Quistes mucinosos simples*: se definen como lesiones quísticas mayores de 1 cm revestidas por epitelio mucinoso pero sin configuración papilar y sin estroma de tipo ovárico.
- *Quistes de retención*: diferentes factores obstructivos pueden producir una dilatación de los ductos (masas tumorales, etc) y sufrir metaplasia mucinosa por lo que se pueden confundir con NMPI. A favor de quiste: pérdida de la arquitectura papilar, luz redondeada y localización de la lesión periférica a la masa neoplásica.
- *Neoplasias intraepiteliales tumorales similares*:
- *Neoplasia tubulo-papilar intraductal*: se separan de la NMPI por ausencia de importante formación de moco y escaso o ausente componente de estructuras papilares.
- Las áreas de *las neoplasias quísticas mucinosas* con pérdida de estroma de tipo ovárico pueden ser similares a la NMPI. Hay que muestrear bien la lesión para identificar el estroma ovárico.
- Los *adenomas y neoplasias papilares no invasivas de la ampolla*: puede ser similares a las NMPI cuando se extienden por los ductos.
- *Las neoplasias papilares intraductales de los ductos biliares* son también similares a las NMPI. En ambos casos es crucial realizar un buen tallado con identificación de los bloques, para saber la localización exacta de la lesión.
- *Adenocarcinomas pancreáticos tipo gran ducto*: se pueden diferenciar por la irregularidad del contorno de los ductos, epitelio plano y la presencia de restos necróticos en la luz.
- *Quistes próximos a la pared duodenal*: algunos quistes congénitos, de duplicación o entéricos pueden simular NMPI. Pueden ser reconocidos por la presencia de pared muscular o de epitelio ciliado.

- k) Evaluación de la NMPI por cortes de congelación:** Como ya se ha comentado anteriormente, lo más importante es realizar el diagnóstico diferencial de las displasias de alto y bajo grado así como identificar focos de carcinoma infiltrante, siempre teniendo en cuenta las dificultades de interpretación que pueden inducir error.

- l) Informe de las muestras citológicas:** La citología de las NMPI deben ser interpretada en un contexto multidisciplinario (con clínicos y radiólogos) puesto que inciden muchos factores que pueden llevar a un diagnóstico erróneo, como hemos visto en el diagnóstico diferencial de las NMPI. En el caso de que se sospeche la presencia de un componente invasor a nivel radiológico, no podemos olvidar que la citología no permite diferenciar la displasia de alto grado del carcinoma invasor, aunque cualquiera de las dos implica indicación quirúrgica.



## Bibliografía:

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A, Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015. Jan-Feb;65(1):5–29.
2. Allema JH, Reinders ME, van Gulik TM, Koelmay MJ, Van Leeuwen DJ, de Wit LT et al. Prognostic factors for survival after pancreaticoduodenectomy for patients with carcinoma of the pancreatic head region. *Cancer.* 1995 Apr 15;75(8):2069-76.
3. Winter JM, Cameron JL, Campbell KA, Arnold MA, Chang DC, Coleman J et al. 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: A single-institution experience. *J Gastrointest Surg.* 2006 Nov;10(9):1199-210; discussion 1210-1.
4. Chang DK, Johns AL, Merrett ND, Gill AJ, Colvin EK, Scarlett CJ et al. Margin clearance and outcome in resected pancreatic cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Jun 10;27(17):2855-62.
5. Verbeke CS, Leitch D, Menon KV, McMahon MJ, Guillou PJ, Anthony A. Redefining the R1 resection in pancreatic cancer. *Br J Surg.* 2006 Oct;93(10):1232-7.
6. Esposito I, Kleeff J, Bergmann F, Reiser C, Herpel E, Friess H et al. Most pancreatic cancer resections are R1 resections. *Ann Surg Oncol.* 2008 Jun;15(6):1651-60.
7. Verbeke CS, Menon KV. Redefining resection margin status in pancreatic cancer. *HPB (Oxford).* 2009 Jun;11(4):282-9.
8. Campbell F, Smith RA, Whelan P, Sutton R, Raraty M, Neoptolemos JP et al. Classification of R1 resections for pancreatic cancer: the prognostic relevance of tumour involvement within 1 mm of a resection margin. *Histopathology.* 2009 Sep;55(3):277-83.
9. Menon KV, Gomez D, Smith AM, Anthony A, Verbeke CS. Impact of margin status on survival following pancreatoduodenectomy for cancer: the Leeds Pathology Protocol (LEEPP). *HPB (Oxford).* 2009 Feb;11(1):18-24.
10. Liszka Ł, Pajak J, Zielińska-Pajak E, Gołka D, Mrowiec S, Lampe P. Different approaches to assessment of lymph nodes and surgical margin status in patients with ductal adenocarcinoma of the pancreas treated with pancreaticoduodenectomy. *Pathology.* 2010 Feb;42(2):138-46.
11. Sabater L, Gómez-Mateo MC, López-Sebastián J, Muñoz-Fornier E, Morera-Ocón F, Cervantes A, et al. Prognostic implications of the standardized study of resection margins in pancreatic cancers. *Cir Esp.* 2014 Oct;92(8):532-8.
12. Delpero JR, Bachellier P, Regenet N, Le Treut YP, Paye F, Carrere N et al. Pancreaticoduodenectomy for pancreatic ductal adenocarcinoma: a French multicentre prospective evaluation of resection margins in 150 evaluable specimens. *HPB (Oxford).* 2014 Jan;16(1):20-33.
13. Verbeke CS. Resection margins in pancreatic cancer: are we entering a new era? *HPB (Oxford).* 2014 Jan;16(1):1-2.
14. Verbeke CS, Gladhaug IP. Resection margin involvement and tumour origin in pancreatic head cancer. *Br J Surg.* 2012 Aug;99(8):1036-49.

15. Westgaard A, Tafjord S, Farstad IN, Cvancarova M, Eide TJ, Mathisen O et al. Resectable adenocarcinomas in the pancreatic head: the retroperitoneal resection margin is an independent prognostic factor. *BMC Cancer*. 2008 Jan 14;8:5.
16. Khalifa MA, Maksymov V, Rowsell C. Retroperitoneal margin of the pancreaticoduodenectomy specimen: anatomic mapping for the surgical pathologist. *Virchows Arch*. 2009 Feb;454(2):125-31.
17. Rau BM, Moritz K, Schuschab S, Alsfasser G, Prall F, Klar E. R1 resection in pancreatic cancer has significant impact on long-term outcome in standardized pathology modified for routine use. *Surgery*. 2012 Sep;152(3 Suppl 1):S103-11.
18. Maksymov V, Hogan M, Khalifa MA. An anatomical-based mapping analysis of the pancreaticoduodenectomy retroperitoneal margin highlights the urgent need for standardized assessment. *HPB (Oxford)*. 2013 Mar;15(3):218-23.
19. Gómez-Mateo MC, Sabater-Ortí L, Ferrández-Izquierdo A. Pathology handling of pancreatoduodenectomy specimens: Approaches and controversies. *World J Gastrointest Oncol*. 2014 Sep 15;6(9):351-9.
20. Adsay NV, Basturk O, Saka B, Bagci P, Ozdemir D, Balci S et al. Whipple made simple for surgical pathologists: orientation, dissection, and sampling of pancreaticoduodenectomy specimens for a more practical and accurate evaluation of pancreatic, distal common bile duct, and ampullary tumors. *Am J Surg Pathol*. 2014 Apr;38(4):480-93.
21. Ethun CG, Kooby DA. The importance of surgical margins in pancreatic cancer. *J Surg Oncol*. 2016 Mar;113(3):283-8.
22. Campbell F, Foulis AK, Verbeke CS. Dataset for the histopathological reporting of carcinomas of the pancreas, ampulla of Vater and common bile duct. In "Standards and datasets for reporting cancers." London: The Royal College of Pathologists, 2010. <https://www.rcpath.org>
23. Chai SM, Brown I, de Boer B, Epari K, Gill A, Jasas K et al. Cancer of the Exocrine Pancreas, Ampulla of Vater and Distal Common Bile Duct. Structured Reporting Protocol. (1st Edition 2014). Australia: Royal College of Pathologists of Australasia, 2014. <http://www.rcpa.edu.au>
24. Washington K, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK, Compton CC et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Exocrine Pancreas: Protocol Applies to All Endocrine Tumors of the Pancreas. Northfield: College of American Pathologists; 2016. <http://www.cap.org>
25. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. Cancer staging manual. American Joint Committee on Cancer (AJCC). 7th ed. New York: Springer; 2010.
26. Gill AJ, Johns AL, Eckstein R, Samra JS, Kaufman A, Chang DK et al. New South Wales Pancreatic Cancer Network (NSWPCN). Synoptic reporting improves histopathological assessment of pancreatic resection specimens. *Pathology*. 2009 Feb;41(2):161-7.
27. Lüttges J, Zamboni G, Klöppel G. Recommendation for the examination of pancreaticoduodenectomy specimens removed from patients with carcinoma of the exocrine pancreas. A proposal for a standardized pathological staging of pancreaticoduodenectomy specimens including a checklist. *Dig Surg*. 1999;16(4):291-6.

28. John BJ, Naik P, Ironside A, Davidson BR, Fusai G, Gillmore R et al. Redefining the R1 resection for pancreatic ductal adenocarcinoma: tumour lymph nodal burden and lymph node ratio are the only prognostic factors associated with survival. *HPB (Oxford)*. 2013 Sep;15(9):674-80.
29. Pang TC, Wilson O, Argueta MA, Hugh TJ, Chou A, Samra JS et al. Frozen section of the pancreatic neck margin in pancreatoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma is of limited utility. *Pathology*. 2014 Apr;46(3):188-92.
30. Gebauer F, Tachezy M, Vashist YK, Marx AH, Yekebas E, Izbicki JR et al. Resection margin clearance in pancreatic cancer after implementation of the Leeds Pathology Protocol (LEPP): clinically relevant or just academic? *World J Surg*. 2015 Feb;39(2):493-9.
31. Japan Pancreas Society. *Classification of Pancreatic Cancer*, 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo: Kanehara; 2003
32. Verbeke CS. Resection margins in pancreatic cancer. *Surg Clin North Am*. 2013 Jun;93(3):647-62.
33. Neoptolemos JP, Stocken DD, Dunn JA, Almond J, Beger HG, Pederzoli P et al. European Study Group for Pancreatic Cancer. Influence of resection margins on survival for patients with pancreatic cancer treated by adjuvant chemoradiation and/or chemotherapy in the ESPAC-1 randomized controlled trial. *Ann Surg*. 2001 Dec;234(6):758-68.
34. Kooby DA, Lad NL, Squires MH 3rd, Maithel SK, Sarmiento JM, Staley CA et al. Value of intraoperative neck margin analysis during Whipple for pancreatic adenocarcinoma: a multicenter analysis of 1399 patients. *Ann Surg*. 2014 Sep;260(3):494-501; discussion 501-3.
35. Schlitter AM, Esposito I. Definition of microscopic tumor clearance (r0) in pancreatic cancer resections. *Cancers (Basel)*. 2010 Nov 25;2(4):2001-10.
36. Lahat G, Lubezky N, Gerstenhaber F, Nizri E, Gysi M, Rozenek M et al. Number of evaluated lymph nodes and positive lymph nodes, lymph node ratio, and log odds evaluation in early-stage pancreatic ductal adenocarcinoma: numerology or valid indicators of patient outcome? *World J Surg Oncol*. 2016 Sep 29;14(1):254.
37. Sabater L, García-Granero A, Escrig-Sos J, Gómez-Mateo MC, Sastre J, Ferrández A et al. Outcome quality standards in pancreatic oncologic surgery. *Ann Surg Oncol*. 2014 Apr;21(4):1138-46.
38. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. 4<sup>th</sup> edition. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2010.
39. Lüttges J, Schemm S, Vogel I, Hedderich J, Kremer B, Klöppel G. The grade of pancreatic ductal carcinoma is an independent prognostic factor and is superior to the immunohistochemical assessment of proliferation. *J Pathol*. 2000 Jun;191(2):154-61.
40. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch. *International Union Against Cancer TNM Classification of Malignant Tumours*. 7<sup>th</sup> ed. Wiley Blackwell, 2009.
41. Allen PJ, Kuk D, Castillo CF, Basturk O, Wolfgang CL, Cameron JL et al. Multi-institutional Validation Study of the American Joint Commission on Cancer (8th Edition) Changes for T and N Staging in Patients with Pancreatic Adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2016 May 9.

42. Adsay NV, Bagci P, Tajiri T, Oliva I, Ohike N, Balci S et al. Pathologic staging of pancreatic, ampullary, biliary, and gallbladder cancers: pitfalls and practical limitations of the current AJCC/UICC TNM staging system and opportunities for improvement. *Semin Diagn Pathol.* 2012 Aug;29(3):127-41.
43. Nelson DW, Blanchard TH, Causey MW, Homann JF, Brown TA. Examining the accuracy and clinical usefulness of intraoperative frozen section analysis in the management of pancreatic lesions. *Am J Surg.* 2013 May;205(5):613-7; discussion 617.
44. Raut CP, Grau AM, Staerckel GA, Kaw M, Tamm EP, Wolff RA et al. Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration in patients with presumed pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg.* 2003 Jan;7(1):118-26; discussion 127-8.
45. Adsay V, Mino-Kenudson M, Furukawa T, Basturk O, Zamboni G, Marchegiani G et al. Members of Verona Consensus Meeting, 2013. Pathologic Evaluation and Reporting of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas and Other Tumoral Intraepithelial Neoplasms of Pancreatobiliary Tract: Recommendations of Verona Consensus Meeting. *Ann Surg.* 2016 Jan;263(1):162-77.
46. Basturk O, Hong SM, Wood LD, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin AV et al. Baltimore Consensus Meeting. A Revised Classification System and Recommendations From the Baltimore Consensus Meeting for Neoplastic Precursor Lesions in the Pancreas. *Am J Surg Pathol.* 2015 Dec;39(12):1730-41.
47. Chun YS, Cooper HS, Cohen SJ, Konski A, Burtness B, Denlinger CS et al. Significance of pathologic response to preoperative therapy in pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol.* 2011 Dec;18(13):3601-7.
48. Evans DB, Rich TA, Byrd DR, Cleary KR, Connelly JH, Levin B et al. Preoperative chemoradiation and pancreaticoduodenectomy for adenocarcinoma of the pancreas. *Arch Surg.* 1992 Nov;127(11):1335-9.
49. Hartman DJ, Krasinskas AM. Assessing treatment effect in pancreatic cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Jan;136(1):100-9.
50. Verbeke C, Löhr M, Karlsson JS, Del Chiaro M. Pathology reporting of pancreatic cancer following neoadjuvant therapy: challenges and uncertainties. *Cancer Treat Rev.* 2015 Jan;41(1):17-26.
51. Ryan R, Gibbons D, Hyland JM, Treanor D, White A, Mulcahy HE et al. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Histopathology.* 2005 Aug;47(2):141-6.
52. White RR, Xie HB, Gottfried MR, Czito BG, Hurwitz HI, Morse MA et al. Significance of histological response to preoperative chemoradiotherapy for pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol.* 2005 Mar;12(3):214-21.
53. Ishikawa O, Ohhigashi H, Teshima T, Chatani M, Inoue T, Tanaka S et al. Clinical and histopathological appraisal of preoperative irradiation for adenocarcinoma of the pancreatoduodenal region. *J Surg Oncol.* 1989 Mar;40(3):143-51.

54. Pendurthi TK, Cooper HS, Young NA, Hoffman JP, Litwin S, Watts P et al. Histopathologic effects of preoperative chemoradiotherapy on pancreatic carcinoma. [abstract]. *Gastroenterology*. 1996;110(4):1410.
55. Chatterjee D, Katz MH, Rashid A, Varadhachary GR, Wolff RA, Wang H et al. Histologic grading of the extent of residual carcinoma following neoadjuvant chemoradiation in pancreatic ductal adenocarcinoma: a predictor for patient outcome. *Cancer*. 2012 Jun 15;118(12):3182-90.

**Tabla 1. Términos usados en la literatura, en relación a los diferentes márgenes y superficies, de las piezas de pancreatomecía.**

<b>Términos de los márgenes o superficies más comúnmente utilizados</b>	<b>Definición</b>	<b>Sinónimos</b>
Márgenes luminales (proximal gástrico o duodenal y distal yeyunal)	Segmento gastrointestinal donde el cirujano secciona	-
Margen de la vía biliar (MVB)	Margen del conducto hepático común o colédoco	-
Margen del cuello pancreático (MCP)	Donde el cirujano secciona y separa el páncreas extirpado del resto del páncreas. En su centro se puede identificar el ducto pancreático. Está limitado por la VMS en su cara izquierda.	Margen pancreático ductal Margen de resección distal Margen de transección pancreática
Margen de la vena mesentérica superior (MVMS)	Forma cóncava con superficie lisa, por donde se extienden la vena mesentérica y la porta, localizado entre MAMS y el MCP.A menudo, se recibe flanqueado con clips de las venas que drenan desde la cabeza del páncreas a la VMS	Lecho vascular Surco vascular Parte medial del margen de resección circunferencial (MRC)
Margen de la arteria mesentérica superior (MAMS)	Área irregular y pequeña de tejidos blandos que se enfrenta a la AMS delimitada por el MVMS en su lado izquierdo. En su lado derecho está unido a la superficie posterior en ángulo agudo	Margen uncinado Margen retroperitoneal Margen interior-posterior Parte medial del MRC
Margen posterior	Superficie lisa y ligeramente fibrosa delimitada por el duodeno y MAMS, que es despegada de los tejidos y cubiertas del surco aortocava	MRC posterior Parte del margen uncinado Parte del MRC posterior Superficie posterior profunda retroperitoneal Margen inferior de la vena cava
Superficie anterior	Tejido adiposo cubierto por serosa y delimitada por el duodeno, MCP y MVMS.	Parte anterior del MRC
MVB: margen de la vía biliar; MCP: margen pancreático; MVMS: margen de la vena mesentérica superior; MAMS: margen de la arteria mesentérica superior; AMS: arteria mesentérica superior; VMS: vena mesentérica superior; MRC: margen de resección circunferencial.		

**Tabla 2: Clasificación de la OMS de los tumores epiteliales malignos de páncreas, vesícula y vías biliares extrahepáticas, región ampular e intestino delgado**

<p><b>PANCREAS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adenocarcinoma ductal             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma adenoescamoso</li> <li>• Carcinoma coloide (carcinoma mucinoso no quístico)</li> <li>• Carcinoma hepatoide</li> <li>• Carcinoma medular</li> <li>• Carcinoma de células en anillo de sello</li> <li>• Carcinoma indiferenciado (anaplásico)</li> <li>• Carcinoma indiferenciado con células gigantes osteoclastos-like</li> </ul> </li> <li>- Carcinoma de células acinares</li> <li>- Cistoadenocarcinoma de células acinares</li> <li>- Neoplasia mucinosa papilar intraductal con carcinoma invasivo asociado</li> <li>- Carcinoma mixto acinar-ductal</li> <li>- Carcinoma mixto acinar-neuroendocrino</li> <li>- Carcinoma mixto acinar-neuroendocrino-ductal</li> <li>- Carcinoma mixto ductal-neuroendocrino</li> <li>- Neoplasia mucinosa quística con carcinoma invasivo asociado</li> <li>- Pancreatoblastoma</li> <li>- Cistoadenocarcinoma seroso</li> <li>- Neoplasia sólida-pseudopapilar</li> </ul>	
<p><b>VESICULA Y DUCTOS BILIARES EXTRAHEPATICOS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adenocarcinoma             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Adenocarcinoma, tipo biliar</li> <li>• Adenocarcinoma, tipo foveolar gástrico</li> <li>• Adenocarcinoma, tipo intestinal</li> <li>• Adenocarcinoma de células claras</li> <li>• Adenocarcinoma mucinoso</li> <li>• Carcinoma de células en anillo de sello</li> </ul> </li> <li>- Carcinoma adenoescamoso</li> <li>- Neoplasia papilar intraquística vesicular) o intraductal (ductos biliares) con carcinoma invasivo asociado</li> <li>- Neoplasia quística mucinosa con carcinoma invasivo asociado</li> <li>- Carcinoma de células escamosas</li> <li>- Carcinoma indiferenciado de intestino delgado</li> </ul>	
<p><b>REGION AMPULAR</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adenocarcinoma             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Invasivo tipo intestinal</li> <li>• Invasivo tipo pancreatobiliar</li> </ul> </li> <li>- Carcinoma adenoescamoso</li> <li>- Carcinoma de células claras</li> <li>- Adenocarcinoma hepatoide</li> <li>- Adenocarcinoma invasivo papilar</li> <li>- Adenocarcinoma mucinoso</li> <li>- Carcinoma de células en anillo de sello</li> <li>- Carcinoma de células escamosas</li> <li>- Carcinoma indiferenciado</li> <li>- Carcinoma indiferenciado con células gigantes osteoclasto-like</li> </ul>	<p><b>INTESTINO DELGADO</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adenocarcinoma</li> <li>- Adenocarcinoma mucinoso</li> <li>- Carcinoma de células en anillo de sello</li> <li>- Carcinoma adenoescamoso</li> <li>- Carcinoma medular</li> <li>- Carcinoma de células escamosas</li> <li>- Carcinoma indiferenciado</li> </ul>
<p>Las lesiones benignas y premalignas y tumores neuroendocrinos no están incluidas</p>	

**Tabla 3: Grado histopatológico de los ADP según la clasificación de la OMS**

Grado tumoral	Diferenciación glandular	Producción mucina	Mitosis (por 10 CGA)	Características nucleares
Grado 1	Bien diferenciado	Abundante	5	Escaso pleomorf. Polarizado
Grado 2	Moderadamente diferenciado	Irregular	6-10	Moderado pleomorfismo
Grado 3	Pobrementemente diferenciado, Estructuras glandulares abortivas Pleomorfismo	Escasa o nula	>10	Marcado pleomorf. Tamaño aumentado
CGA: campos de gran aumento				

**Tabla 4: Equivalencia entre cadenas ganglionares según las clasificaciones de la Sociedad Japonesa de Pancreas (JPS) y la AJCC-UICC.**

Cadenas ganglionares JPS	Cadenas ganglionares UICC
5	Suprapilórica
6	Infrapilórica
7	Arteria gastrica izquierda
8	Arteria hepatica común
9	Celíaca
10	Hilio esplénico
11	Arteria esplénica superior
12	Ligamento hepatoduodenal
13	Pancreatoduodenal posterior
14	Vaso mesentérico superior
15	Arteria cólica
16	Para-aórtica
17	Pancreatoduodenal anterior
18	Inferior



**Tabla 5a. Comparación de los sistemas de gradación de la respuesta anatomopatológica a la quimioterapia adyuvante**

Autores/Año	Criterios histológicos	Grado	Descripción		
Ishikawa et al.(1989)	CCSD: células cancerosas severamente degeneradas	3	1: <33% células cancerosas 2: 33-66% células cancerosas 3: ≥66% células cancerosas		
Evans et al. (1992)	Viabilidad	4	I. Los cambios citológicos característicos de malignidad están presentes, y tan solo (<10%) o no desaparición de las células tumorales es evidente. II. Además de las características citológicas de malignidad, 10-90% de las células tumorales han desaparecido. IIa. Desaparición de 10-50% de células tumorales IIb. Desaparición de 51-90% de células tumorales III. Escasas (<10%) células tumorales viables están presentes. IIIM. Están presentes masas de moco. IV. Ausencia de células tumorales viables IVM. Están presentes masas de moco acelular		
Pendurthi et al. (1996)	Fibrosis	2	<80% fibrosis ≥80% fibrosis		
White et al. (2005)	Necrosis residual, carga tumoral y fibrosis	4	Necrosis	Carga tumoral residual	Fibrosis
			Extensa Moderada Focal Ausente	Abundante Moderada Escasa Mínima Ausente	Abundante Moderada Leve
Chun et al. (2011)	Fibrosis	3	Menor: <50% fibrosis relativa a células neoplásicas residuales Parcial: 50≤fibrosis<95% Mayor: ≥95% fibrosis		
CAP: The College of American Pathologists; RCPA: The Royal College of Pathologists of Australasia.					

**Tabla 5b (continuación de 5a). Comparación de los sistemas de gradación de la respuesta anatomopatológica a la quimioterapia adyuvante**

Autores/Año	Criterios histológicos	Grado	Descripción
Hartman y Krasinskas. (2012)	Necrosis, carga tumoral residual y fibrosis	3/4	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pobre: No evidencia definitiva de efecto del tratamiento; abundantes (&gt;90%) células cancerosas residuales; solo están presentes mínimos efectos citopáticos y fibrosis basal.</li> <li>- Mínima a moderada: Células tumorales residuales presentes; incluye pequeños grupos de células/glándulas sin evidencia de efectos citopáticos, células/glándulas fuera de la masa fibrótica principal, y/o &gt;5% de la masa fibrótica principal con glándulas cancerosas, con o sin efecto citopático.</li> <li>- Respuesta marcada: No tumor residual o escaso, células cancerosas aisladas o pequeños grupos de glándulas cancerosas con marcados efectos citopáticos y presentes en un estroma fibroso.</li> </ul> <p>* La presencia de necrosis es informada separadamente</p> <p>**Si no se identifican células tumorales dentro de la lesión que se ha identificado en la pieza quirúrgica y que ha sido examinada histológicamente en su totalidad, se puede informar como respuesta completa.</p>
Chatterjee et al.(2012) y Verbeke et al. (2015)	Tumor residual	2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Respuesta completa o casi completa (células individuales o pequeños grupos de células cancerosas)</li> <li>- Limitada o ausencia de respuesta</li> </ul>
CAP (2016) y RCPA (2014) [Sistema de Ryan (2005)]	Tumor residual, fibrosis	4	<p>0 (Respuesta completa): No células tumorales viables.</p> <p>1 (Respuesta moderada): células individuales o pequeños grupos de células cancerosas.</p> <p>2 (Respuesta mínima): Tumor residual con fibrosis</p> <p>3 (Pobre): Tumor residual extenso</p>
CAP: The College of American Pathologists; RCPA: The Royal College of Pathologists of Australasia.			

**Tabla 6: Nueva clasificación TNM propuesta por AJCC para el estadiaje de los Adenocarcinoma pancreáticos (8th Edición).**

<b>TUMOR PRIMARIO (T)</b>			
T1: Diámetro tumoral máximo <2 cm T2: Diámetro tumoral máximo >2 <4 cm T3: Diámetro tumoral máximo >4 cm T4: tumor infiltra el eje celíaco o la arteria mesentérica superior (Tumor primaria irresecable)			
<b>GANGLIOS LINFATICOS REGIONALES (N)</b>			
N0: Ausencia de metástasis regional N1: Metástasis in 1-3 ganglios linfáticos regionales N2: Metástasis in >4 ganglios linfáticos regionales			
<b>METASTASIS A DISTANCIA (M)</b>			
M0: Ausencia de metástasis a distancia M1: Metástasis a distancia			
<b>ESTADIOS</b>			
Estadio IA	T1	N0	M0
Estadio IB	T2	N0	M0
Estadio IIA	T3	N0	M0
Estadio IIB	T1-T3	N1	M0
Estadio III	Cualquier T	Cualquier N	M0
	T4	N2	M0
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

Tabla 7: Ejemplo de informe histopatológico de las piezas quirúrgicas de cáncer pancreático

INFORME HISTOPATOLÓGICO				
<b>Paciente:</b> - Nombre y apellidos: - Edad: - Número de afiliación:		<b>Número de identificación:</b>		
		<b>Banco de Tumores:</b> Si No		
<b>Diagnóstico previo:</b>		<b>Foto documentación:</b> Si No		
ESTUDIO MACROSCÓPICO				
<b>Tipo de muestra:</b>		<b>Localización tumoral:</b>		
<b>Características macroscópicas:</b>		<b>Tamaño tumoral:</b> cm		
ESTUDIO MICROSCÓPICO				
<b>Tipo histológico:</b>		<b>Invasión:</b> Vascular Linfática Perineural	<b>Lesiones precursoras:</b> PanIN IPMN Otros:	
<b>Grado histológico:</b>				
<b>Tamaño microscópico del tumor:</b> cm				
<b>Extensión del tumor:</b>		<b>Lesiones no neoplásicas:</b>		
<b>Efectos del tratamiento (terapia neoadyuvante) (sistema Ryan):</b> - Respuesta completa (grade 0) - Respuesta moderada (grade 1) - Respuesta mínima (grade 2) - Respuesta pobre (grade 3)		- Obstrucción del ducto biliar - Obstrucción del ducto pancreático - Cálculos pancreáticos - Pancreatitis crónica - Otras:		
<b>Distancia a los márgenes*:</b>	<b>Ganglios linfáticos:</b>		<b>+</b>	<b>Total</b>
- Próximal (luminal):	- Suprapilórico (S5)			
- Distal (luminal):	- Infrapilórico (S6)			
- Vía biliar:	- Peripancreático (S13, 17, 18)			
- Pancreático:	- Arteria gástrica izquierda (S7)			
- Superficie anterior:	- Arteria hepática común (S8)			
- Margen posterior:	- Celíaco (S9)			
- MVMS:	- Ligamento hepatoduodenal (S12)			
- MAMS:	- Vaso mesentérico superior (S14)			
- Otros:	- Arteria cólica (S15)			
*Pintar los márgenes siempre que se pueda. Si el margen está afecto, indicar la distancia y especificar si la afectación es directa o indirecta	- Paraaortico (S16)			
	- Hilio esplénico (S10)			
	- Arteria esplénica superior (S11)			
	RG (ganglios positivos/total):			
Clasificación TNM :				
Comentarios:				

# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA ENDOCRINA DE LA SEAP

*Coordinador: José Manuel Cameselle-Teijeiro ([josemanuel.cameselle@usc.es](mailto:josemanuel.cameselle@usc.es))*



# Tumores primarios de la glándula suprarrenal y síndromes hereditarios asociados. Recomendaciones para su estudio y elaboración del informe anatomopatológico.

Maria Rosa Bella Cueto<sup>1</sup>, José Manuel Cameselle-Teijeiro<sup>2</sup>

1 *Servicio de Patología, Parc Taulí Hospital Universitari – Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí I3PT. Universitat Autònoma de Barcelona. Sabadell, Barcelona.*

2 *Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.*

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

El objetivo del presente documento es facilitar una herramienta para el manejo y elaboración del informe anatomopatológico de los tumores de la glándula suprarrenal, con especial énfasis en las principales neoplasias primarias no neuroblásticas, ya que el neuroblastoma fue tratado en la anterior edición del Libro Blanco (Club de Patología Pediátrica).

## II. REPASO ANATÓMICO, HISTOLÓGICO Y FISIOLÓGICO

Las glándulas suprarrenales se localizan en el retroperitoneo, por encima de los riñones, rodeadas por tejido conjuntivo y adiposo, hallándose incluidas en la fascia renal de Gerota. Su porción más medial o cabeza es más gruesa, continuándose con el cuerpo y la cola.

Macroscópicamente podemos identificar una corteza externa de contenido lipídico y color amarillo intenso, y una médula de localización central y color grisáceo, donde se localizan las células cromafines. Las glándulas tienen una rica vascularización proveniente de la aorta, arterias frénicas inferiores y arterias renales. Las venas se originan en el hilio de la glándula; la vena central derecha desemboca en la vena cava inferior y la izquierda lo hace en la vena renal. Los ganglios regionales incluyen los paraaórticos, periaórticos y retroperitoneales.

Se considera normal el peso de la glándula hasta 6 g, con un espesor de 0,7-1,3 mm en la cortical y 2 mm en la medular.

A nivel cortical se puede diferenciar histológicamente: a) la zona glomerulosa, más externa, productora de mineralcorticoides como la aldosterona, b) la zona fasciculada, en la porción media, que constituye el 70 % del grosor, con células de citoplasma claro productora de glucocorticoides como el cortisol, y c) la zona reticulada, más interna y con células de citoplasma eosinófilo, productora de hormonas sexuales<sup>1</sup>.

La médula se concentra en la cabeza de la glándula, constituyendo un paraganglio intraadrenal del sistema simpático. Por ello, muchos de los conceptos referidos a la médula adrenal son también aplicables a los paraganglios extraadrenales, aunque no son objeto de este documento. La médula adrenal está constituida por las células cromafines dispuestas en nidos (de ahí el término de "zellballen", que significa "bolas de células" en alemán), neuronas, células sustentaculares, algunas células corticales, y estroma fibrovascular. Las células cromafines liberan catecolaminas, básicamente adrenalina contenida en los gránulos de neurosecreción, en respuesta a estímulos de stress recibidos a través de fibras nerviosas simpáticas<sup>2</sup>.

### III. PROCESAMIENTO DE LA PIEZA QUIRÚRGICA

**A. INFORMACIÓN CLÍNICA Y ANALÍTICA:** Es importante disponer de la información clínica, analítica y quirúrgica previamente al estudio de la pieza de adrenalectomía, para asegurar un estudio más preciso y realizar la imprescindible correlación clinicopatológica. La participación en comités interdisciplinarios, con presencia de un patólogo familiarizado con la patología adrenal, puede favorecer todo el proceso diagnóstico<sup>3</sup>. Entre los datos de interés figuran:

- Antecedentes familiares: síndromes conocidos, patología neoplásica.
- Antecedentes personales: síndromes conocidos, patología en otros órganos endocrinos tumoral y no tumoral, tumores en otras localizaciones, cirugías previas.
- Síntomas y signos de disfunción hormonal: síndrome de Cohn, síndrome de Cushing, virilización o feminización, hipertensión, cambio de hábito deposicional, etc. A diferencia de los paragangliomas extraadrenales, los feocromocitomas suelen ser sintomáticos, pudiendo producir hormonas diferentes a la adrenalina (se han descrito ACTH, beta-endorfina, hormona liberadora de corticotropina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, péptido intestinal vasoactivo, hormona liberadora de hormona de crecimiento, neuropéptido Y, péptido YY, factor de crecimiento-1 similar a insulina, galanina, adrenomedulina, serotonina, somatostatina, y neuropéptido similar a gastrina)<sup>4</sup>.
- Tratamientos para patologías endocrinas.
- Analítica: bioquímica, elevación sérica de hormonas (aldosterona, cortisol), aumento sérico o urinario de adrenalina, noradrenalina o dopamina y/o de sus metabolitos metilados, metanefrina, normetanefrina y metoxitiramina, respectivamente.
- Pruebas de imagen: gammagrafía con metayodobencilguanidina-I<sup>123</sup>, o tomografía con emisión de positrones (PET) con 18F-6-fluorodopamina o 18F-6-fluorodihidroxifenilalanina (18FFDOPA), útiles para la detección de feocromocitoma<sup>5</sup>.
- Información quirúrgica: sospecha diagnóstica, vía de abordaje (laparoscópica o no), resección completa o no, relación aparente con los órganos vecinos y/o invasión vascular macroscópica.

**B. ESTUDIO INTRAOPERATORIO:** No es habitual el estudio intraoperatorio de una pieza de adrenalectomía. Puede plantearse en casos excepcionales en que pueda tener interés identificar metástasis o infecciones que puedan imitar una lesión primaria, siempre que el manejo quirúrgico inmediato tenga que ser diferente. En todo caso, hay que intentar que la distorsión de la glándula sea la mínima, someter a congelación el mínimo material imprescindible y que la identificación con tinta china de los márgenes sea previa a la sección<sup>6</sup>.

**C. ESTUDIO MACROSCÓPICO:** Idealmente la pieza debería recibirse en fresco, lo que permite obtener tejido para biobanco, si el tamaño de la lesión lo permite y no compromete el diagnóstico. También es deseable que la glándula se encuentre indemne. Las resecciones laparoscópicas tienen un mayor riesgo de laceración.



ración y de fragmentación de la pieza. Ello puede ocasionar dificultades en la valoración de la invasión de la cápsula, de la indemnidad del margen de resección, y debido a la distorsión de las estructuras vasculares, también en la valoración de la invasión vascular. En caso de gran fragmentación de la pieza, las medidas deberán obtenerse del estudio radiológico preoperatorio.

En primer lugar es recomendable obtener fotografías macroscópicas de la pieza.

Se debe intentar orientar la pieza, mediante la localización del hilio, identificando las venas para buscar una posible invasión venosa.

La pieza debe medirse en tres dimensiones y pesarse. La decisión de obtener el peso real de la glándula eliminando el tejido adiposo circundante o de priorizar el estudio de los márgenes y la relación de la lesión adrenal con la cápsula adrenal y el tejido adiposo circundante debe valorarse en cada caso. Posiblemente sean más importantes los últimos datos cuando exista sospecha de neoplasia. En cualquier caso, si se considera de interés, siempre se puede eliminar el tejido adiposo tras la realización de los cortes y pesar el tejido adrenal remanente.

Tras pintar los márgenes de la pieza con tinta china y fijar la misma con formol, Carnoy o ácido acético diluido, deben practicarse secciones perpendiculares al eje principal de la glándula, realizar fotos macroscópicas adicionales y también obtener una pequeña muestra para fijar en glutaraldehído por si fuese necesario estudio ultraestructural (opcional). Tras ello, pueden precisarse algunas medidas de la glándula o el peso, si fuera preciso. Si aparece una lesión, ésta debe medirse en sus tres dimensiones. Para las clasificaciones de riesgo que utilizan el peso, suelen referirse al peso de la glándula y no al peso del tumor, por lo que este dato no suele ser necesario.

Después de la obtención de material para congelación en biobanco (opcional), se deben fijar las secciones en formol idealmente durante 24 horas. Para que las secciones se mantengan en un plano se propone dejarlas sobre papel secante antes de sumergirlas en un recipiente con abundante formol.

En cuanto al muestreo, aunque no hay un consenso, se considera que hasta 2,5 o 3 cm de diámetro máximo, las lesiones tumorales pueden ser incluidas en su totalidad, incrementando un mínimo de un bloque por cm. de diámetro máximo, obteniendo muestras de las zonas con aspectos diferentes, de las áreas con posible invasión de la capsula tumoral, del tejido extraadrenal, vascular o del margen quirúrgico de la pieza. Se recomienda obtener una sección del margen de la vena central en cualquier caso. También debe obtenerse representación de glándula no tumoral, realizándose secciones finas en busca de pequeñas lesiones nodulares. En el tejido adiposo periadrenal o adjunto a la pieza deben buscarse adenopatías, que deberán cuantificarse, registrar su diámetro máximo y realizar una recogida en bloques bien identificada, manteniendo la relación del ganglio con la grasa adyacente para poder identificar invasión extraganglionar si la hubiera. En caso de otras estructuras adyacentes, se debe obtener también representación de las mismas.

Las variables a obtener del estudio macroscópico son:

- Lateralidad de la glándula.
- Integridad de la glándula: íntegra, rupturas, fragmentación.
- Peso y tamaño de la glándula (especificar si incluye el tejido adiposo periglandular o no).
- Tumor: único o múltiple, diámetros máximos, encapsulación y/o delimitación, localización cortical o medular, color, consistencia, áreas de aspecto necrótico o hemorrágico, relación con tejido periadrenal o estructuras vasculares.
- Aspecto de la glándula residual: grosor capsular y medular, nodulaciones o aspecto homogéneo.
- Número de ganglios linfáticos identificados, diámetro máximo y localización si identificable o indicada<sup>3,4,6,7</sup>.

El aspecto macroscópico nos puede aportar información sobre<sup>8</sup>:

- Las lesiones de la corteza suprarrenal, que suelen ser amarillas, aunque en el caso de lesiones malignas puede haber necrosis, hemorragia y/o imágenes sospechosas de invasión capsular o vascular.
- Una lesión de color negro puede corresponder a un adenoma cortical no funcionante con pigmento (neuromelanina o lipofucsina).

- Los tumores corticales funcionantes suelen asociarse a atrofia del parénquima glandular no tumoral.
- Los feocromocitomas son blanco-amarillentos y rojizos, y si son grandes presentan aspecto encapsulado, necrosis, hemorragia o degeneración quística.
- En el caso de niños hay que pensar en el neuroblastoma, que suele ser blando, con hemorragia y quistes.
- Las metástasis están constituidas más a menudo por tejido blanquecino y firme, y pueden ser múltiples y destructivas.
- Algunas infecciones y hemorragias intraglandulares organizadas pueden simular neoplasias.

**D. ESTUDIO MICROSCÓPICO:** Debe prestarse particular atención a determinadas características según se trate de tumores corticales o feocromocitomas.

1. En **tumores corticales suprarrenales** se considerará específicamente:

- Grado nuclear (Fuhrman)
- Índice mitótico por 50 campos de gran aumento (400X)
- Presencia de mitosis atípicas
- Porcentaje de células con citoplasma claro
- Crecimiento en sábana, con pérdida del patrón lobulado
- Necrosis
- Pérdida de la trama de reticulina

2. En el **feocromocitoma** se considerará específicamente:

- Nidos celulares de tamaño superior a 3 veces el de los paraganglios normales, o crecimiento difuso en sábana
- Necrosis central o confluyente
- Celularidad elevada
- Monotonía celular
- Presencia de células fusiformes
- Índice mitótico por 10 campos de gran aumento (400X)
- Pleomorfismo nuclear marcado
- Hiper cromasia nuclear

**E. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.** Las determinaciones inmunohistoquímicas pueden ser de ayuda en caso de problemas con el diagnóstico microscópico<sup>9</sup>.

1. En **tumores corticales suprarrenales** se detectará positividad para inhibina, Melan-A (clon A103), citoqueratinas, sinaptofisina, calretinina y vimentina. La expresión de la proteína S-100 es variable. El anticuerpo más específico es el factor esteroideogénico-1 (SF1), aunque no suele encontrarse entre los paneles de uso habitual y requiere una fijación adecuada para ser valorable. El estudio para hormonas secretadas no suele ser necesario, dado que suelen identificarse en el suero del paciente. Los marcadores inmunohistoquímicos que pueden contribuir al diagnóstico de malignidad y al pronóstico en tumores corticales adrenales son Ki-67, el factor de crecimiento similar a insulina 2 (IGF-2), beta-catenina y p53. La tinción histoquímica para reticulina también puede resultar útil. En el carcinoma cortical suprarrenal se debería realizar estudio de inestabilidad de microsátelites (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2) para descartar un Síndrome de Lynch. La positividad para p53 también hace recomendable descartar mutaciones germinales de TP5310.
2. En el **feocromocitoma** hay positividad para cromogranina A y B, sinaptofisina y enolasa neuronal específica. La cromogranina A es muy específica y la sinaptofisina es más sensible por lo que suelen utilizarse en combinación. Con la proteína S-100 podremos identificar fácilmente las células sustentaculares. La tirosina-hidroxilasa es un marcador aún más específico. Típicamente, el feocromocitoma es negativo para citoqueratinas. El estudio inmunohistoquímico para los complejos succinato-deshidrogenasa A, B y D (SDHA, SDHB y SDHD) es útil para despistaje de síndromes familiares (Tabla 1); en el caso de

la SDHB es también útil para el pronóstico<sup>11</sup>. Pueden ayudar también para el pronóstico la tinción para reticulina y los estudios inmunohistoquímicos para CD34 (permite apreciar más fácilmente el tamaño de los nidos celulares) y para Ki-67<sup>12</sup>.

Tabla 1. Valor inmunohistoquímico de las subunidades de las succinato deshidrogenasas (SDHx)

SDHB	Pérdida de expresión en cualquier mutación de SDH
SDHA	Pérdida de expresión únicamente si hay mutación de SDHA
SDHD	Expresión conservada en caso de cualquier mutación de SDH

3. En el caso de sospechar una **lesión metastásica**, se deberán utilizar los marcadores inmunohistoquímicos más específicos de estirpe según la sospecha diagnóstica.

#### IV. PROTOCOLO DIAGNÓSTICO PARA LOS TUMORES CORTICALES SUPRARRENALES

Aunque no todos los datos tienen una importancia diagnóstica o pronóstica establecida, todos ellos están incluidos en varios estudios:<sup>3,6,7,13</sup>

- Tipo de espécimen
- Proceso primario o recidiva (si conocido)
- Tipo de cirugía
- Diagnóstico histológico
- Lesión única o múltiple
- Diámetro máximo
- Peso (especificar si del tumor o de la glándula)
- Grado nuclear
- Índice mitótico (mitosis por 50 campos de gran aumento)
- Presencia de mitosis atípicas
- Porcentaje de células claras
- Porcentaje de áreas con crecimiento difuso
- Presencia de bandas fibrosas
- Necrosis (%)
- Invasión de la cápsula tumoral
- Invasión vascular más allá de la cápsula del tumor e identificación de la vena invadida si es posible. La invasión vascular venosa es definida como la presencia de células tumorales intravasculares asociadas a trombo
- Invasión extraadrenal a tejido adiposo periglandular o a órganos o estructuras adyacentes
- Invasión sinusoidal
- Invasión linfática
- Invasión perineural
- Resección completa, incompleta (macroscópica o microscópica) o no valorable
- Distancia al margen más próximo
- Ganglios linfáticos: localización, número total, número de invadidos
- Resto de parénquima cortical y medular: hiperplasia, atrofia, cuerpos de espirolactona
- pTNM
- Estadio

#### A. CRITERIOS PARA LA CLASIFICACIÓN DE LAS NEOPLASIAS CORTICALES ADRENALES

El diagnóstico de **carcinoma cortical suprarrenal** se define por la presencia de invasión local o metástasis a distancia, pero existen escalas de riesgo de comportamiento maligno en neoplasias en las que aún no hay evidencia de malignidad. Los diferentes criterios utilizados son:

1. **Escala de Weiss:**<sup>14</sup> considera carcinoma a los tumores que presentan tres o más de los siguientes hallazgos:
  - Grado nuclear elevado (según criterios de Fuhrman)
  - Índice mitótico elevado (>5 por 50 campos de gran aumento)
  - Mitosis atípicas
  - Componente de células claras < 25%
  - Arquitectura difusa >33%
  - Necrosis
  - Invasión venosa
  - Invasión sinusoidal
  - Invasión capsular
2. **Escala de Weiss modificada por Aubert:**<sup>15</sup> considera carcinoma aquellos tumores con valor 3 o más, según la presencia y valor de las siguientes variables:
  - >5 mitosis por 50 campos de gran aumento (valor= 2)
  - Componente de células claras <20% (valor= 2)
  - Mitosis atípicas (valor=1)
  - Necrosis (valor=1)
  - Invasión capsular (valor=1)

Debe indicarse si alguno de los criterios no es valorable (por ejemplo, la invasión capsular en un tumor desgarrado o reseado parcialmente).<sup>3</sup>
3. **Propuesta de Volante:**<sup>16</sup> incluye la alteración de la trama de reticulina (evidencia de crecimiento en sábana, con pérdida del patrón en nidos) y por lo menos uno de los siguientes criterios:
  - Índice mitótico >5 por 50 campos de gran aumento
  - Invasión vascular
  - Necrosis
4. **Tumores oncocíticos:**<sup>17</sup> debido a que los tumores de morfología oncocítica tienen constitutivamente algunos de los criterios de Weiss, se considera:
  - *Carcinoma cortical suprarrenal oncocítico* si cumple alguno de los siguientes criterios mayores:
    - >5 mitosis por 50 campos de gran aumento
    - Presencia de mitosis atípicas
    - Invasión venosa
  - *Neoplasia cortical suprarrenal oncocítica de potencial maligno incierto*, si cumple alguno de los siguientes criterios menores:
    - Presencia de necrosis
    - Invasión capsular o sinusoidal
    - Tamaño >10 cm
    - Peso >200 g
5. **Tumores pediátricos (propuesta de Wieneke):**<sup>18</sup> en el caso de tumores pediátricos la propuesta de Wieneke considera los siguientes criterios diagnósticos:
  - Peso >400 g
  - Tamaño >10,5 cm
  - Invasión de vena cava
  - Invasión capsular
  - Invasión vascular
  - Extensión a tejidos blandos periadrenales o a órganos adyacentes
  - Necrosis
  - Índice mitótico >10 mitosis por 10 campos de gran aumento
  - Presencia de mitosis atípicas

Considera tumor benigno cuando hay  $\leq 2$  criterios, tumor de comportamiento indeterminado cuando hay 3 criterios, y mal pronóstico si hay  $\geq 4$  criterios.

6. **Datos inmunohistoquímicos** favorecedores de malignidad en tumores corticales adrenales son:

- Positividad para IGF-2<sup>19,20</sup>
- Índice de Ki67  $>5\%$  (a pesar de la reconocida variabilidad en su expresión dependiendo de la fijación y el sistema de conteo<sup>21</sup>)
- Positividad para p53<sup>22</sup>

7. **Score predictivo de Helsinki.**<sup>24</sup> Ha sido propuesto más recientemente y se obtiene de la suma de:

- 3 puntos, si el índice mitótico es superior a 5 mitosis por 50 campos de gran aumento
- 5 puntos, si se observa necrosis
- Valor del índice de Ki-67

Los valores superiores a 8,5 se han asociado a la presencia de metástasis y valores superiores a 17 a mal pronóstico.

Dentro del grupo de los carcinomas corticales suprarrenales, se considera que pueden tener un curso más agresivo los carcinomas que presenten las siguientes características:<sup>13,23,25</sup>

- Expresión nuclear de beta-catenina
- Expresión de p53
- Índice mitótico superior a 20 mitosis por 50 campos de gran aumento
- Índice proliferativo (Ki67) superior a 10%
- Morfología mixoide
- Componente sarcomatoide en  $>10\%$  del tumor
- Aberraciones cromosómicas (determinadas ganancias y pérdidas cromosómicas)

## B. ESTADIAJE DEL CARCINOMA CORTICAL SUPRARRENAL

Los sistemas de estadiaje establecidos son el TNM (UICC), recientemente modificado en la octava edición<sup>25</sup> y el sistema mENSAT, que es la última versión de la clasificación propuesta por el European Group for the Study of Adrenal Tumors.<sup>26</sup>

### TNM

T1: Tumor inferior o igual a 5 cm., sin extensión extraadrenal

T2: Tumor de más de 5 cm., sin extensión extraadrenal

T3: Tumor de cualquier tamaño con invasión local, pero sin invasión de órganos adyacentes

T4: Tumor de cualquier tamaño con invasión de órganos adyacentes (riñón, diafragma, vena renal, vena cava, páncreas, hígado)

N0: Ausencia de metástasis linfáticas regionales

N1: Presencia de metástasis linfáticas regionales

M0: Ausencia de metástasis a distancia

M1: Presencia de metástasis a distancia

### Estadio UICC

Estadio I: T1, N0, M0

Estadio II: T2, N0, M0

Estadio III: T3, T4 o N1

Estadio IV: M1

### Estadio modificado ENSAT (mENSAT)

Estadio I: T1, N0, M0

Estadio II: T2, N0, M0

Estadio III: T3-T4 N0 M0

Estadio IV: cualquier T N1 o M1

- IV-A: máximo dos órganos afectados (contando el primario y los ganglios linfáticos no resecaados como órganos)
- IV-B: tres órganos afectados
- IV-C: más de tres órganos afectados

Estos estadios pueden ser modulados por el estado **GRAS** (Grado, R status, Age and Symptoms):<sup>27</sup> a) favorable (Ki-67<20%, resección completa (R0), edad <50 años y ausencia de síntomas hormonales); b) no favorable (edad >50 años o presencia de síntomas al diagnóstico), o c) desfavorable (Ki-67>20% y/o resección incompleta (R1/R2)).

**Carcinomas corticales suprarrenales pediátricos.** En el caso de los carcinomas corticoadrenales pediátricos se utiliza la clasificación establecida por Sandrini y modificada por el Children's Oncology Group:<sup>28</sup>

Estadio 1: Tumor completamente resecaado, con peso <100 g, volumen <200cm<sup>3</sup> y niveles hormonales postoperatorios normales

Estadio 2: Tumor completamente resecaado, con peso >100 g, volumen >200cm<sup>3</sup> y niveles hormonales postoperatorios normales

Estadio 3: Tumor residual o inoperable

Estadio 4: Presencia de metástasis

### C. SÍNDROMES HEREDITARIOS ASOCIADOS A CARCINOMA CORTICAL SUPRARRENAL

Aunque el carcinoma cortical suprarrenal suele ser esporádico, se puede asociar a los siguientes síndromes hereditarios:<sup>9,12,29</sup>

- Síndrome de Li-Fraumeni o SBLA (*sarcoma, breast and brain tumors, leukemia, laryngeal carcinoma and lung cancer*), por mutación de *TP53* (prevalencia en pacientes con carcinoma adrenal de 3-5% en adultos y 50-80% en niños).
- Síndrome de Lynch, por mutaciones en *MSH2, MSH6, MLH1* y *PMS2* (prevalencia del 3%).
- Neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN-1), por mutaciones en *MENIN* (prevalencia de 1-2%).
- Síndrome de Beckwith-Weidemann, por mutaciones en *IGF2, H19* y en locus 11p15 (prevalencia <1%).
- Complejo de Carney, por mutación del gen *PRKAR1A* (prevalencia <1%).
- Neurofibromatosis tipo 1 (NF1), por mutaciones de *NF1* (prevalencia <1%).
- Poliposis Adenomatosa Familiar, por mutaciones del gen *APC* (prevalencia <1%).

En ausencia de historia de un síndrome hereditario conocido, debe sospecharse un síndrome de susceptibilidad genética al cáncer si hay: un carcinoma cortical suprarrenal metacrónico, bilateral y/o asociado a otras neoplasias malignas en el mismo paciente, evidencia de lesión cortical preexistente, edad pediátrica, asociación a defectos congénitos, presencia de otras alteraciones endocrinas, existencia de lesiones cutáneas típicas de síndromes hereditarios (fibromatosis), historia familiar de carcinoma corticoadrenal o incidencia anormal de otro tipo de neoplasias malignas.

### V. PROTOCOLO DIAGNÓSTICO PARA EL FEOCROMOCITOMA

Los siguientes datos han sido recogidos en diferentes estudios, pero no todos ellos tienen importancia diagnóstica o pronóstica reconocida:<sup>3,5,6,7</sup>

- Tipo de espécimen
- Proceso primario o recidiva, si conocido
- Tipo de cirugía
- Diagnóstico histológico (feocromocitoma o feocromocitoma compuesto)
- En el feocromocitoma compuesto, tipo y porcentaje de los componentes.
- Lesión única o múltiple
- Diámetros máximos (de todas las lesiones)

- Peso (especificar si del tumor o de la glándula)
- Hiperchromasia nuclear
- Pleomorfismo nuclear marcado
- Índice mitótico (mitosis por 10 campos de gran aumento, contando 50 campos en la zona de mayor actividad mitótica)
- Presencia de mitosis atípicas
- Índice proliferativo (Ki-67)
- Elevada densidad celular
- Monotonía celular
- Nidos de células de tamaño >3 veces superior al observado en los paraganglios
- Crecimiento difuso
- Identificación de células sustentaculares (con inmunotinción para la proteína S-100)
- Morfología celular predominante: epitelioide, fusiforme, oncocítica, células claras, etc.
- Presencia de glóbulos hialinos
- Necrosis tipo comedocarcinoma (%)
- Encapsulación: cápsula gruesa, fina o ausente
- Invasión de la cápsula tumoral
- Invasión vascular venosa (definida como la presencia de células tumorales intravasculares asociadas a trombo): intracapsular o extracapsular; identificación de la vena invadida (si posible)
- Invasión extraadrenal a tejido adiposo periglandular o a órganos o estructuras adyacentes
- Invasión linfática
- Invasión perineural
- Resección completa, incompleta (macroscópica o microscópica) o no valorable
- Distancia al margen más próximo
- Ganglios linfáticos: localización, número total, número de invadidos
- Presencia de hiperplasia difusa medular adrenal. Se valora como grosor medular superior a 1/3 del grosor de la glándula, presencia de parénquima medular en la cola de la glándula, o presencia de nódulos subcentimétricos.
- Inmunohistoquímica:
  - SDHB
  - SDHA
  - SDHD
- Escala de riesgo: la denominada PASS (Pheochromocytoma of the Adrenal gland Scaled Score) publicada por Thompson<sup>30</sup> en 2002 y la posterior de GAPP de Kimura et al,<sup>31</sup> que incluye datos analíticos sobre el tipo de catecolaminas producidas.

#### A. CRITERIOS PARA LA CLASIFICACIÓN DEL FEOCROMOCITOMA

Se recomienda no clasificar el feocromocitoma como benigno o maligno, sino como **feocromocitoma** o como **feocromocitoma metastásico** cuando hay evidencia de metástasis a distancia. Debe tenerse especial precaución para evitar confundir tumores multicéntricos primarios con metástasis, p. ej.: confundir como metastásicos paragangliomas primarios de pulmón.

El **feocromocitoma compuesto** tiene componentes de ganglioneuroma, ganglioneuroblastoma, neuroblastoma o de tumor de vaina nerviosa. En el feocromocitoma compuesto deberá especificarse el subtipo y el porcentaje de estos componentes; cuando ocurren metástasis suelen surgir de tumores con ganglioneuroblastoma, neuroblastoma o tumor maligno de vaina nerviosa periférico.

El riesgo de comportamiento metastásico puede evaluarse con los siguientes sistemas de PASS<sup>30</sup> publicado en 2002 y/o de GAPP<sup>31</sup> publicado en 2005 (Tablas 2 y 3). Sin embargo, estas escalas permiten establecer un riesgo, pero en ningún caso pronostican el comportamiento de un tumor en concreto.

Tabla 2. Escala de PASS (Thompson, 2002)<sup>30</sup>

<i>Criterio</i>	<i>Valor</i>
Nidos celulares de tamaño 3 veces mayor que en paraganglios o crecimiento difuso	2
Necrosis confluyente o de tipo comedo	2
Elevada celularidad	2
Monotonía celular	2
Células fusiformes	2
>3 mitosis por 10 campos de gran aumento	2
Mitosis atípicas	2
Extensión al tejido adiposo	2
Invasión vascular	1
Invasión capsular	1
Marcado pleomorfismo nuclear	1
Hipercromasia nuclear	1

Estimación: se considera que un "score" > a 4 confiere mayor riesgo de metástasis.

Tabla 3. Escala de GAPP (Kimura et al, 2005)<sup>31</sup>

<i>Criterio</i>	<i>Valor</i>
Patrón arquitectural	
- Nidos celulares regulares	0
- Nidos celulares grandes o irregulares	1
- Pseudorosetas	1
Celularidad	
- Baja (<150 células por campo de 400X)*	0
- Media (150-250 células por campo de 400X)*	1
- Alta (>250 células por campo de 400X)*	2
Presencia de necrosis de tipo comedo	2
Presencia de invasión vascular y/o capsular	1
Índice de Ki-67 en 2 campos de 200X (500-2000 células) evaluado en las áreas de mayor proliferación ("hot spots")	
- <1%	0
- 1%-3%	1
- >3%	2
Catecolaminas secretadas	
- Adrenalina (± noradrenalina)	0
- No adrenalina (noradrenalina ± dopamina)	1
- No funcionante	0

\*Celularidad cuantificada usando un micrómetro (1 mm x 1 mm) y una rejilla de 62'5 mm<sup>2</sup> a 400X.

Comentarios: los autores encontraron que el valor medio de los tumores sin metástasis se encontraba próximo a 2 y el de los metastatizantes entre 5 y 6; la aparición más precoz de las metástasis se asoció a los scores más altos.

Se propone la clasificación de: Bien diferenciado (score 0-2), Moderadamente diferenciado (score 3-6) y Pobremente diferenciado (score 7-10).



Otro dato de interés es la ausencia de expresión inmunohistoquímica de SDHB, ya que se ha observado que en los casos con mutación de SDHB, con pérdida de expresión, hay mayor frecuencia de comportamiento metastásico.<sup>32</sup>

## B. SÍNDROMES HEREDITARIOS ASOCIADOS A FEOCROMOCITOMA

El Feocromocitoma puede aparecer en diversos síndromes hereditarios endocrinos.<sup>4,12,33,34</sup> Aunque el diagnóstico del síndrome suele ser conocido de antemano, en algunas ocasiones el feocromocitoma puede ser el primer tumor en manifestarse. Siempre debe sospecharse un síndrome hereditario en caso de tumores múltiples o asociados a paraganglioma(s) o hiperplasia adrenal. A continuación, se enumeran los principales síndromes en los que se ha descrito asociación a feocromocitoma, con las principales características:

### 1. Neoplasia Endocrina Múltiple-2 (MEN2A y MEN2B)

- Por mutaciones en el proto-oncogén *RET*
- 40-50% presentan feocromocitoma, a menudo multifocales y bilaterales
- Bajo riesgo de metástasis
- Secretores de adrenalina y noradrenalina
- En el 25% de los casos es el primer tumor
- Asociado a hiperplasia medular adrenal nodular o difusa

### 2. Síndrome de Von Hippel-Lindau Tipo 2

- Por mutaciones en el gen *VHL*
- Incidencia de feocromocitoma del 10-26%
- En 40-80% bilaterales y multifocales
- El 40% de feocromocitomas en niños se asocian a este síndrome
- Secretores de noradrenalina
- Características morfológicas: cápsula gruesa, estroma mixoide o hialino, células pequeñas con fino patrón vascular, citoplasma claro o anfófilo, ausencia de glóbulos hialinos, no atipia ni actividad mitótica

### 3. Neurofibromatosis Tipo 1

- Por mutaciones en el gen NF1 (neurofibromina)
- El < 5% desarrollan feocromocitomas
- Hasta un 25% de los feocromocitomas serán bilaterales
- Secretores de adrenalina y noradrenalina

### 4. Síndromes Familiares Feocromocitoma/Paraganglioma<sup>35,36</sup>

#### TIPO 4

- Mutación en el gen *SDHB*
- Feocromocitoma en 18-28%
- Es el tipo más asociado a morbi-mortalidad por feocromocitoma

#### TIPOS 1, 2, 3 y 5

- Por mutaciones en genes *SDHD*, *SDHAF2*, *SDHC* y *SDHA* respectivamente
- Baja incidencia de feocromocitoma

#### TRÍADA DE CARNEY<sup>37</sup>

- Posible hipermetilación del promotor de *SDHC*
- 16% presentan Feocromocitoma, y 3% Feocromocitoma bilateral

#### SÍNDROME DE CARNEY-STRATAKIS<sup>38</sup>

- Mutaciones en *SDH* y asociación a GIST
- 1 Feocromocitoma en los 11 casos descritos, además de paraganglioma

### 5. Hay también mutaciones genéticas poco frecuentes asociadas a Feocromocitoma/Paraganglioma familiar

#### MUTACIÓN DE *TMEM127*<sup>39</sup>

- Suelen presentar feocromocitoma, que es bilateral en el 39% de los casos

MUTACIÓN DE *MAX*<sup>40</sup>

- Identificado en casos de herencia paterna
- Secretores de noradrenalina
- MUTACIÓN DE *FH*<sup>41</sup>
- Asociado a tumores múltiples y de comportamiento agresivo
- Identificado en casos pediátricos

MUTACIÓN DE *PDH1( EGLN2)*<sup>12</sup>

- Asociado a comportamiento agresivo

### Bibliografía

1. Giordano TJ. Normal Adrenal Cortex. Endocrine Pathology ed. Mete O y Asa S. Cambridge University Press. 2016;588-89.
2. Oudijk L, De Krijger RR, Pakak K, Tischler AS. Adrenal medulla and extra-adrenal paraganglia. Endocrine Pathology ed. Mete O y Asa S. Cambridge University Press. 2016;628-635.
3. Moonim MT, Johnson SJ, McNicol AM. Cancer dataset for the histological reporting of adrenal cortical carcinoma and pheochromocytoma/paraganglioma (2nd edition). Standards and datasets for reporting cancers. The Royal College of Pathologists. 2012.
4. Mete O, Tischler AS, de Krijger R et al. Protocol for the examination of specimens from patients with pheochromocytomas and extra-adrenal paragangliomas. Arch Pathol Lab Med 2014;138:182-8.
5. Cano Mejías M, Rodríguez Puyol D, Fernández Rodríguez L, Sención Martínez GL, Martínez Miguel P. Feocromocitoma-paraganglioma: del diagnóstico bioquímico al genético. Nefrología 2016; 36:481-88.
6. Lam A, Chong G, Dahlstrom J et al. Adrenal gland tumours structured reporting protocol. The Royal College of Pathologists of Australasia. 2013.
7. Page DL, Ruby SG. Protocol for the examination of specimens from patients with malignant adrenal cortical tumors and pheochromocytomas, exclusive of neuroblastoma and other adrenal medullary tumors of childhood: a basis for checklists. Cancer Committee of the College of American Pathologists. Arch Pathol Lab Med 2000;124:17-20.
8. Gómez Dorronsoro ML, Beloqui Pérez R. Pautas para un correcto diagnóstico en glándula suprarrenal. Rev Esp Patol 2003;36:413-8.
9. Lloyd RV. Adrenal cortical tumors, pheochromocytomas and paragangliomas. Mod Pathol 2011;24:S58-S65.
10. Papotti M, Duregon E, Volante M, McNicol AM. Pathology of the adrenal cortex: a reappraisal of the past 25 years focusing on adrenal cortical tumors. Endocr Pathol 2014;25:35-48.
11. Papatomas TG, Oudijk L, Persu A et al. SDHB/SDHA immunohistochemistry in pheochromocytomas and paragangliomas: a multicenter interobserver variation analysis using virtual microscopy: a Multinational Study of the European Network for the Study of Adrenal Tumors (ENS@T). Mod Pathol 2015;28: 807-21.
12. Duan K, Giordano TJ, Mete O. Adrenal cortical proliferations. Endocrine Pathology ed. Mete O y Asa S. Cambridge University Press. 2016;602-27.

13. Wieneke J, Amin M, Chang SS et al. Protocol for the Examination of Specimens from Patients With Carcinoma of the Adrenal Gland. College of American Pathologists (CAP). 2013.
14. Weiss LM. Comparative histologic study of 43 metastasizing and nonmetastasizing adrenocortical tumors. *Am J Surg Pathol* 1984;8:163-9.
15. Aubert S, Wacrenier A, Leroy X et al. Weiss system revisited: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 49 adrenocortical tumors. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1612-9.
16. Volante M, Bollito E, Sperone P et al. Clinicopathological study of a series of 92 adrenocortical carcinomas: from a proposal of simplified diagnostic algorithm to prognostic stratification. *Histopathology* 2009;55:535-43.
17. Bisceglia M, Ludovico O, Di Mattia A et al. Adrenocortical oncocytic tumors: report of 10 cases and review of the literature. *Int J Surg Pathol* 2004;12:231-43.
18. Wieneke JA, Thompson LD, Heffess CS. Adrenal cortical neoplasms in the pediatric population: a clinicopathologic and immunophenotypic analysis of 83 patients. *Am J Surg Pathol* 2003;27: 867-81.
19. Assie G, Giordano TJ, Bertherat J. Gene expression profiling in adrenocortical neoplasia. *Mol Cell Endocrinol* 2012;351:111-7.
20. Schmitt A, Saremaslani P, Schmid S et al. IGFII and MIB1 immunohistochemistry is helpful for the differentiation of benign from malignant adrenocortical tumours. *Histopathology* 2006;49: 298-307.
21. Papathomas TG, Pucci E, Giordano TJ et al. An International Ki67 Reproducibility Study in Adrenal Cortical Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2016;40: 569-76.
22. Stojadinovic A, Brennan MF, Hoos A et al. Adrenocortical adenoma and carcinoma: histopathological and molecular comparative analysis. *Mod Pathol* 2003;16: 742-51.
23. Papotti M, Duregon E, Volante M, McNicol AM. Pathology of the adrenal cortex: a reappraisal of the past 25 years focusing on adrenal cortical tumors. *Endocr Pathol* 2014;25:35-48.
24. Pennanen M, Heiskanen I, Sane T et al. Helsinki score—a novel model for prediction of metastases in adrenocortical carcinomas. *Hum Pathol* 2015;46: 404-10.
25. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. Ed. The TNM Classification of Malignant Tumours. 8th ed. UICC. 2016.
26. Fassnacht M, Johanssen S, Quinkler M et al. Adrenocortical Carcinoma Registry Group; European Network for the Study of Adrenal Tumors. Limited prognostic value of the 2004 International Union Against Cancer staging classification for adrenocortical carcinoma: proposal for a Revised TNM Classification. *Cancer* 2009;115:243-50.
27. Libé R, Borget I, Ronchi CL et al. Prognostic factors in stage III-IV adrenocortical carcinomas (ACC): an European Network for the Study of Adrenal Tumor (ENSAT) study. *Ann Oncol* 2015;26:2119-25.

28. Gulack BC, Rialon KL, Englum BR et al. Factors associated with survival in pediatric adrenocortical carcinoma: An analysis of the National Cancer Data Base (NCDB). *J Pediatr Surg* 2016;51:172-7.
29. Else T, Kim AC, Sabolch A et al. Adrenocortical carcinoma. *Endocr Rev.* 2014;35:282-326.
30. Thompson LD. Pheochromocytoma of the Adrenal gland Scaled Score (PASS) to separate benign from malignant neoplasms: a clinicopathologic and immunophenotypic study of 100 cases. *Am J Surg Pathol* 2002;26:551-66.
31. Kimura N, Watanabe T, Noshiro T, Shizawa S, Miura Y. Histological grading of adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas and relationship to prognosis: a clinicopathological analysis of 116 adrenal pheochromocytomas and 30 extra-adrenal sympathetic paragangliomas including 38 malignant tumors. *Endocr Pathol* 2005;16:23-32.
32. Papathomas TG, de Krijger RR, Tischler AS. Paragangliomas: update on differential diagnostic considerations, composite tumors, and recent genetic developments. *Semin Diagn Pathol* 2013;30:207-23.
33. Pillai S, Gopalan V, Smith RA, Lam AK. Updates on the genetics and the clinical impacts on pheochromocytoma and paraganglioma in the new era. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016;100:190-208.
34. Welander J, Söderkvist P, Gimm O. Genetics and clinical characteristics of hereditary pheochromocytomas and paragangliomas. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18: R253-76.
35. Hensen EF, Bayley JP. Recent advances in the genetics of SDH-related paraganglioma and pheochromocytoma. *Fam Cancer* 2011; 10: 355-63.
36. Gimenez-Roqueplo AP, Dahia PL, Robledo M. An update on the genetics of paraganglioma, pheochromocytoma, and associated hereditary syndromes. *Horm Metab Res* 2012;44:328-33.
37. Carney JA. Gastric stromal sarcoma, pulmonary chondroma, and extra-adrenal paraganglioma (Carney Triad): natural history, adrenocortical component, and possible familial occurrence. *Mayo Clin Proc* 1999;74:543-52.
38. Carney JA, Stratakis CA. Familial paraganglioma and gastric stromal sarcoma: a new syndrome distinct from the Carney triad. *Am J Med Genet* 2002; 108: 132-9.
39. Qin Y, Yao L, King EE et al. Germline mutations in TMEM127 confer susceptibility to pheochromocytoma. *Nat Genet* 2010;42:229-33.
40. Burnichon N, Cascón A, Schiavi F et al. MAX mutations cause hereditary and sporadic pheochromocytoma and paraganglioma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 2828-37.
41. Castro-Vega LJ, Buffet A, De Cubas AA et al. Germline mutations in FH confer predisposition to malignant pheochromocytomas and paragangliomas. *Hum Mol Genet* 2014; 23: 2440-6.

# Patología de la hipófisis

Óscar Toldos González<sup>1</sup>, Aurelio Hernández Laín<sup>1</sup>, Andrés Pérez Barrios<sup>2</sup>.

1 Sección de Neuropatología, Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

2 Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

## I. INTRODUCCIÓN

Las biopsias de hipófisis son unos de los especímenes más frecuentes con que se puede encontrar el patólogo general en el ámbito de la neuropatología. Aquí expondremos un breve resumen del manejo de este tipo de biopsias, las técnicas complementarias más útiles, y la patología más frecuente, así como con su diagnóstico diferencial.

## II. EMBRIOLOGÍA E HIPÓFISIS NORMAL

La hipófisis es una glándula endocrina constituida por un lóbulo anterior (adenohipófisis) y un lóbulo posterior (neurohipófisis), separadas por una pequeña porción de tejido (lóbulo intermedio).

- **Adenohipófisis:** origen en una invaginación del ectodermo oral (bolsa de Rathke). Seis tipos celulares distintos (especializados cada uno ellos en la producción de una o dos hormonas) dispuestos en un patrón acinar, que se diferencian a través de un complejo sistema de expresión de factores de transcripción, que pueden agruparse en tres linajes:
  - **Linaje de *t-box pituitary transcription factor* (Tpit):** células corticotropas (ACTH).
  - **Linaje de *pituitary transcription factor 1* (Pit-1):** origen de las células somatotropas (GH), tirotropas (TSH) y lactotropas (prolactina, PRL).
  - **Linaje de *steroidogenic factor 1* (SF1):** células gonadotropas (FSH, LH).
- **Neurohipófisis:** origen en una evaginación del neuroectodermo. Constituida por pituicitos (glía modificada) y los axones de neuronas cuyos somas están en el hipotálamo. Almacena y secreta hormonas (vasopresina y oxitocina) que actuarán a distancia, así como hormonas que regulan la producción hormonal de la adenohipófisis.

## III. MACROSCOPIA Y MANEJO DEL ESPÉCIMEN

El espécimen que habitualmente se obtiene en la cirugía hipofisaria suele consistir en fragmentos muy pequeños de tejido donde generalmente no es posible hacer un diagnóstico macroscópico. Dado que el estudio de la patología hipofisaria se basa fundamentalmente en la morfología e inmunohistoquímica, lo óptimo es la fijación en formol e inclusión en parafina. Sólo en raros casos se puede requerir estudio ultraestructural. Si hubiera suficiente tejido, también sería recomendable congelar una muestra para posibles estudios moleculares.

#### IV. MICROSCOPIA Y TÉCNICAS COMPLEMENTARIAS

- **Antes del estudio microscópico:** imprescindible obtener información clínica relevante (clínica del paciente, bioquímica de hormonas, radiología).
- **Evaluación inicial:** estudio con H&E (permitirá en la gran mayoría de los casos la distinción entre patología primaria de hipófisis, de otros procesos).
- **Técnicas complementarias:**
  - **Reticulina y colágeno IV:** demuestran cambios en la arquitectura acinar.
  - **PAS:** pone de manifiesto los gránulos de secreción de adenomas corticotropos.
- **Inmunohistoquímica (IHQ):** **hormonas** de la adenohipófisis (subunidades beta de FSH, LH y TSH; prolactina [PRL], GH y ACTH); **factores de transcripción** (Tpit, Pit1, SF1); **queratinas** de bajo peso (CAM5.2), **Mib1** (ki67), **p53** y a veces **marcadores neuroendocrinos** (sinaptofisina más sensible y cromogranina más específica).
- **Microscopía electrónica:** las características ultraestructurales que definen ciertos subtipos de adenomas pueden identificarse mediante inmunohistoquímica, por lo que se ha abandonado en el estudio ultraestructural de rutina de los adenomas de hipófisis.

#### V. HIPÓFISIS NORMAL VS HIPERPLASIA VS ADENOMA

La patología hipofisaria más frecuente son los adenomas de adenohipófisis, por lo que uno de los principales diagnósticos diferenciales será distinguir entre hipófisis normal, hiperplasia y adenoma:

- **Hipófisis normal:** patrón acinar conservado. Citología heterogénea
- **Hiperplasia:** patrón acinar conservado pero acinos grandes. Citología heterogénea.
- **Adenoma:** pérdida del patrón acinar. Citología monomorfa.

#### VI. ADENOMAS DE HIPÓFISIS

##### A. INTRODUCCIÓN

Suponen aproximadamente el 15-20% de los tumores intracraneales y en series de autopsias se ha estimado que ocurren hasta en casi un 20% de la población general. Son tumores muy heterogéneos y un diagnóstico genérico de adenoma de hipófisis no se considera ya suficiente. Existen diferentes formas de clasificar los adenomas, siendo la clasificación clínico-patológica la más efectiva y recomendada (ver tablas 1 y 2).

##### B. ADENOMAS CLÍNICAMENTE FUNCIONANTES

###### (1) ADENOMAS QUE CAUSAN EXCESO DE GH: 10-15% del total. Positivos para Pit1 y GH.

###### Adenomas somatotropos:

- **Adenoma somatotropo densamente granulado:** células de mediano tamaño, monótonas y citoplasma eosinófilo. **IHQ:** *Pit1* positivo; *GH* intensa y difusa; puede haber células positivas para prolactina (pero menos de un 5% de las células tumorales). *CAM5.2* en patrón citoplasmático. Suelen responder a análogos de somatostatina.
- **Adenoma somatotropo escasamente granulado:** células pálidas/cromóforas. **Cuerpos fibrosos** (inclusiones citoplásmicas nodulares eosinófilas, que corresponden a agregados de queratinas). Núcleo con variable pleomorfismo y con tendencia a situarse excéntrico. **IHQ:** *Pit1* positivo. *GH:* parcheada y débil. *CAM5.2:* patrón en gota paranuclear en más del 70% de las células (cuerpos fibrosos). No suelen responder a análogos de somatostatina.
- **Formas mixtas:** adenomas con positividad citoplasmática para *CAM5.2* entremezcladas con otras con cuerpos fibrosos, o presencia en una misma célula de gota paranuclear superpuesta a un

anillo perinuclear. Similares a los densamente granulados en términos de respuesta a análogos de somatostatina.

**Adenomas mixtos GH y PRL:**

- **Adenoma mammosomatotropo:** población única de células eosinófilas que coexpresa GH y PRL. IHQ: difusamente positivas para *Pit1* y *GH*. *PRL*: variable. *CAM5.2*: patrón citoplasmático.
- **Adenoma mixto somato-lactotropo:** doble población celular (lo más habitual es la combinación de adenoma somatotropo densamente granuloso y adenoma lactotropo escasamente granuloso). IHQ: Componente somatotropo positivo para *GH*. Componente lactotropo positivo para *prolactina* (patrón en Golgi). La distinción entre estos dos tipos solo se puede hacer con microscopía electrónica, pero se considera innecesario en términos de pronóstico.
- **Adenomas productores de GH plurihormonal:** predominantemente células somatotropas densamente granuladas, con variable diferenciación mammosomatotropa o tirotrópica. IHQ: positividad difusa para *Pit1*, *GH* y/o *prolactina* y/o *TSH*. *CAM5.2*: patrón perinuclear.

**(2) ADENOMAS CON EXCESO DE PROLACTINA (adenoma lactotropo):** 30% de todos los adenomas. Positivos para *Pit1* y *PRL*.

- **Adenoma lactotropo escasamente granuloso:** células cromóforas. Algunos casos tienen prominente fibrosis o calcificación. IHQ: positivas para *Pit1*. *PRL* con patrón en gota paranuclear (Golgi). Buena respuesta a agonistas de dopamina.
- **Adenoma lactotropo densamente granuloso:** células eosinófilas. IHQ: positivas para *Pit1*. *PRL* con patrón citoplasmático difuso. Son más agresivos y frecuentemente no responden a agonistas de dopamina.
- **Adenoma acidófilo *stem cell*:** células monomorfas, eosinófilas, con cambio oncocítico y presencia de megamitocondrias. Puede haber cuerpos fibrosos (pero menos que en los GH escasamente granulados). IHQ: Positividad fuerte para *Pit1*; *PRL*: frecuente positividad focal (raramente patrón en Golgi). Pueden ser positivos para GH (pero menos que para PRL). *CAM5.2*: escasos cuerpos fibrosos. El diagnóstico requiere confirmación de la presencia de megamitocondrias por microscopía electrónica o IHQ (anticuerpos anti-mitocondria). No responden a agonistas de dopamina.

**(3) ADENOMAS CON EXCESO DE TSH:** positivos para *Pit1* y *TSH*. Fibrosis estromal y marcada atipia nuclear. Suelen ser macroadenomas altamente infiltrativos. IHQ: *Pit1*, *TSH* (a veces GH y PRL).

**(4) ADENOMAS CON EXCESO DE ACTH:** 10-15% del total. Positivos para *Tpit* y *ACTH*.

- **Adenoma corticotropo densamente granuloso:** células monótonas con amplio citoplasma basófilo, intensamente positivas con PAS. IHQ: Positivo para *Tpit*. *ACTH* y *CAM5.2* intensa y difusa. Son normalmente microadenomas que requieren tratamiento quirúrgico.
- **Adenoma corticotropo escasamente granuloso:** células de citoplasma más pequeño que el anterior y cromóforo, con positividad débil para PAS. IHQ: Positivo para *Tpit*, *ACTH* focal y débil. *CAM5.2*: intenso y difuso. Son tumores agresivos.
- **Adenoma de células de Crooke:** células similares a las células de Crooke no tumorales (acumulación de queratinas que dan a la célula un aspecto eosinófilo homogéneo). Gránulos de secreción (positivos para PAS y ACTH) desplazados en localización submembranosa o alrededor del núcleo. *CAM5.2*: patrón en "anillo" perinuclear. Positividad para *Tpit*. Suelen ser macroadenomas invasivos con frecuentes recurrencias.

**(5) ADENOMAS CON EXCESO DE GONADOTROPINAS (adenoma gonadotropo):** 30% del total. Positivos para *SF1*. Células cromóforas, monótonas. IHQ: cualquier adenoma positivo para *SF1* independientemente de la expresión de beta-FSH y beta-LH. Positividad variable para *FSH/LH*.



**(6) ADENOMAS PLURIHORMONALES**

- **Adenoma silente subtipo 3:** adenoma plurihormonal del linaje **Pit1**. El apelativo "silente" puede llevar a confusión, ya que pueden tener clínica asociada a hipersecreción hormonal (la mayoría de las veces como hiperprolactinemia y algunos con acromegalia). **IHQ:** positividad focal para más de una hormona de la línea *Pit1*. Se trata de adenomas agresivos.
- **Adenoma plurihormonal no usual:** excepcional. Diferenciación "translinaje". Este término no debe aplicarse a los adenomas que expresen GH/PRL/TSH (mismo linaje Pit1). Es más apropiado para la combinación de FSH- LH con ACTH o de GH/PRL/TSH con ACTH. **Importante:** algunas veces se trata de células preexistentes atrapadas por la neoplasia. Otras puede deberse a reacciones cruzadas si se usan anticuerpos policlonales.

**C. ADENOMAS CLÍNICAMENTE NO FUNCIONANTES**

Adenomas sin signos o síntomas de hipersecreción hormonal (criterio clínico, no IHQ). Suponen aproximadamente el 30-40% de los adenomas operados y se manifiestan por efecto de masa. Se dividen en dos grandes grupos, los **adenomas silentes** (positivos por IHQ para alguna hormona, pero sin clínica asociada) y los adenomas **Null cell** (negativos para hormonas y factores de transcripción).

**(1) ADENOMAS SILENTES:** el tipo más frecuentes el gonadotropo, seguido del silente ACTH (los adenomas GH, PRL y TSH clínicamente silentes son raros). Los adenomas negativos para hormonas pueden clasificarse mediante factores de transcripción (Tpit, Pit1 y SF1), siendo los positivos para SF1 adenomas gonadotropos y los positivos para Tpit corticotropos. Los adenomas Pit1 positivos solo muy raramente son negativos inmunohistoquímicamente para GH, PRL o TSH.

- **Adenoma silente somatotropo:** positivos para *Pit1, GH*.
- **Adenoma silente lactotropo:** positivo para *Pit1, PRL*.
- **Adenoma silente tirotropo:** positivos para *Pit1, TSH*. Suelen ser grandes e invasivos.
- **Adenoma silente corticotropo:** positivo para *Tpit* y *ACTH*. Comportamiento agresivo con recurrencias frecuentes, tendencia a invadir y a hacer infartos hemorrágicos. Dos variantes (similares a los subtipos funcionantes densa y escasamente granulados):
- **Adenoma corticotropo silente tipo 1:** *ACTH* intensa.
- **Adenoma corticotropo silente tipo 2:** *ACTH* débil.
- **Adenoma silente gonadotropo:** tipo histológico más frecuente de los no funcionantes. La gran mayoría de los adenomas silentes son adenomas gonadotropos, así como la mayoría de los adenomas gonadotropos son clínicamente silentes. Adenomas positivos para *SF1*, con positividad variable para *FSH* y *LH*.

**(2) ADENOMAS NEGATIVOS PARA HORMONAS:** muchos de ellos expresan SF1 (clasificándose por tanto como silentes gonadotropos) y una buena proporción de casos expresan Tpit (silentes corticotropos). Muy pocos tienen Pit1.

- **Adenoma Null cell:** adenoma que no muestra diferenciación usando hormonas o factores de transcripción ("triple negativos").

**D. APOPLEJÍA HIPOFISARIA:** aparición súbita de cefalea, afectación de pares craneales o alteraciones en la visión, debido a un infarto hemorrágico o hemorragia aguda de un adenoma.

**E. IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LA CLASIFICACIÓN DE LOS ADENOMAS:** aunque considerados benignos, algunos tienen un comportamiento agresivo con tendencia a recurrir e invadir estructuras adyacentes. En la actualidad no existen criterios universalmente aceptados para poder predecir que casos se comportarán de forma agresiva. Hasta la fecha la correcta clasificación histológica es el principal predictor independiente del comportamiento en los adenomas de hipófisis. Se reconocen algunos subtipos con un comportamiento clínico mas agresivo:



- **Adenomas productores de prolactina densamente granulados** y los de tipo "*stem cell acidofilos*" normalmente no responden al tratamiento con agonistas de dopamina.
- **Adenomas productores de GH escasamente granulados** no suelen responder bien al tratamiento con análogos de somatostatina.
- **Adenomas tirotrópos** y los **adenomas "*null cell*"** suelen ser infiltrativos, imposibilitando una resección completa.
- **Adenomas silentes subtipo 3** suelen ser macroadenomas invasivos, con recurrencias frecuente. No obstante son relativamente radiosensibles, por lo que puede plantearse un tratamiento combinado de cirugía y radioterapia.
- **Adenomas silentes corticotropos:** suelen ser macroadenomas, invasivos y con frecuencia tienden a hacer apoplejía hipofisaria. De los dos subtipos, el subtipo 2 (escasamente granulados) se comporta peor.
- **Adenomas de Crooke:** suelen ser macroadenomas invasivos con frecuentes recurrencias.

#### F. FACTORES PRONÓSTICOS. ADENOMA ATÍPICO. CARCINOMA.

- **Adenoma atípico:** la OMS 2004 define como 'adenoma atípico' aquel adenoma hipofisario con un crecimiento invasivo, con aumento del índice mitótico (la OMS no especifica un punto de corte, utilizándose por algunos autores 2 mitosis en 10 campos de gran aumento), sobreexpresión de p53 y aumento de Ki67 (superior a 3%). No obstante en el momento actual calificar a un adenoma como atípico no predice un comportamiento maligno. Las principales críticas a esta definición de la OMS son que está sujeta a interpretaciones individuales y que el valor establecido como punto de corte para Ki67 (del 3%) no ha sido validado. En cuanto a p53 también existen datos discordantes. Es por esta falta de consenso por lo que siguen buscándose nuevos factores y biomarcadores más precisos. De entre los propuestos destacan receptores de membrana (para somatostatina y dopamina), el receptor de factor de crecimiento fibroblástico 4, metaloproteasas (colagenasa MMP9), mutaciones en el receptor de GH, pérdida de 11p y/o 11q, gen transformador de tumor hipofisario o miRNAs. Pero se necesitan más estudios para ser validados.
- **Carcinoma:** proliferación de células de la adenohipófisis con diseminación cerebroespinal o metástasis sistémicas. No hay ningún criterio morfológico para distinguir adenomas de carcinomas

#### G. GENÉTICA DE LOS ADENOMAS:

Breve resumen de la genética más relevante de los adenomas de hipófisis. La mayoría de los adenomas son esporádicos y solo raramente aparecen en el seno de síndromes hereditarios, sin que existan diferencias histológicas o IHQ entre ambas situaciones:

- **Síndromes línea germinal:** historia familiar.
  - **MEN 1:** herencia AD (gen menina). Recientemente se ha descrito una nueva mutación en línea germinal en MEN1 (CDKN1B o p27/KIP1).
  - **Síndrome de adenoma hipofisario aislado familiar:** adenoma de presentación familiar en ausencia de evidencia clínica o genética de MEN1 o complejo Carney. En un 25% de los casos se ha demostrado inactivación del gen de *aryl-hydrocarbon receptor interacting protein* (AIP).
  - **Complejo Carney:** herencia AD. En el 70% de los casos se debe a mutación en el gen PRKAR1A.
  - **Síndrome McCune-Albright:** mosaicismo en el gen  $G_s$  alpha. Es raro encontrar adenomas bien definidos.
- **Adenomas esporádicos** con alteraciones genéticas conocidas.
  - Mutación de síndrome de McCune-Albright en un 30-40% de los adenomas productores de GH.
  - Acrogigantismo ligado a X: hipersecreción de de GH causado por microduplicaciones en Xq26.3. Adenomas corticotropos esporádicos: recientes trabajos han descrito casos con mutación somática en el gen USP8 deubiquitinasa (33-62% de los casos).

- Alteraciones en genes supresores (p53, RB) u oncogenes (como Ras) son raros en los adenomas de hipófisis.

**H. PERSPECTIVAS. NUEVA CLASIFICACIÓN:** la actual clasificación de la OMS (2004) ha sido criticada por algunos autores que, como se ha comentado, alegan que no predice el comportamiento de tumores invasivos, y además las subvariantes son muy confusas. Recientemente se ha propuesto una nueva clasificación<sup>9</sup> basada en el tamaño del tumor, tipo histológico por IHQ (PRL, ACTH, GH, TSH y LH-FSH), y cinco grados (en función de la invasividad [evaluada por RM], tasa proliferativa [evaluada por mitosis, Ki67] y p53).

## VII. OTRAS LESIONES HIPOFISARIAS Y DE LA SILLA TURCA

La patología más frecuente de hipófisis son los adenomas, no obstante existen otras lesiones en la región de la silla turca que el patólogo debe conocer para realizar el correcto diagnóstico diferencial (ver figura 1).

- Lesiones tumorales de neurohipófisis: **pituicitoma, tumor de células granulares y oncocitoma de células fusiformes**. Clínicamente simulan adenomas no funcionantes. Se acepta que derivan de los pituicitos del lóbulo posterior hipofisario. Todos ellos tienen en común que son positivos para TTF1 y se consideran de bajo grado (grado I) por la OMS (2016).
- Lesiones inflamatorias de hipófisis ("**hipofisitis**"): pueden presentarse con una clínica de efecto de masa similar a los adenomas no funcionantes. Se han descrito 5 tipos (**linfocítica, granulomatosa, xantomatosa, necrotizante e hipofisitis relacionada con IgG4**).
- Patologías no primariamente hipofisarias: las más importantes por frecuencia son el **craneofaringioma, quistes de la bolsa de Rathke, meningiomas o metastasis**.

## Bibliografía

1. Al-Brahim NY, Asa SL. My approach to pathology of the pituitary gland. *J Clin Pathol* 2006; 59: 1245-1253.
2. Asa SL. Practical pituitary pathology: what does the pathologist need to know? *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132:1231-1240.
3. Mete O, Asa SL. Clinicopathological correlations in pituitary adenomas. *Brain Pathol.* 2012; 22:443-53.
4. Mete O, Asa SL. Therapeutic implications of accurate classification of pituitary adenomas. *Semin Diagn Pathol* 2013; 30: 158-64.
5. Mete O, Ezzat S, Asa SL. Biomarkers of aggressive pituitary adenomas. *J Mol Endocrinol* 2012; 49:R69-R78.
6. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavene WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016;131: 803-20.
7. DeLellis R, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. (Eds): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. IARC Press: Lyon 2004.
8. Bellastella G, Maiorino MI, Bizarro A, Giugliano D, Esposito K, Bellastella A, De Bellis A. Revisitation of autoimmune hypophysitis: knowledge and uncertainties on pathophysiological and clinical aspects. *Pituitary* 2016;19: 625-642.

9. Trouillas J, Roy P, Sturm N, et al. A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas: a multicentric case–control study of 410 patients with 8 years post-operative follow-up. *Acta Neuropathol* 2013; 126:123–135.
10. Balogun JA, Monsalves E, Juraschka K, Parvez K, Kucharczyk W, Mete O, Gentili F, Zadeh G. Null cell adenomas of the pituitary gland: an institutional review of their clinical imaging and behavioral characteristics. *Endocr Pathol*. 2015; 26:63–70
11. Kleinschmidt-DeMasters BK , Lopes MB, Prayson RA. An algorithmic approach to sellar region masses. *Arch Pathol Lab Med*. 2015; 139:356-372.

## FIGURAS Y TABLAS

**TABLA 1:** Asa SL. Practical pituitary pathology: what does the pathologist need to know? *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(8):1231-40.

<b>Adenomas clínicamente funcionantes</b>	<b>Adenomas clínicamente silentes</b>
Adenomas que causan exceso de GH - Adenomas somatotropos - Adenomas mamosomatotropos	Adenomas somatotropos silentes
Adenomas que causan hiperprolactinemia - Adenomas lactotropos - Adenomas lactotropos con reactividad GH	Adenomas lactotropos silentes
Adenomas que causan exceso de TSH - Adenomas tiotropos	Adenomas tiotropos silentes
Adenomas que causan exceso de ACTH - Adenomas corticotropos	Adenomas corticotropos silentes
Adenomas que causan exceso de gonadotropinas - Adenomas gonadotropos	Adenomas gonadotropos silentes
Adenomas plurihormonales	Adenomas hormona negativos

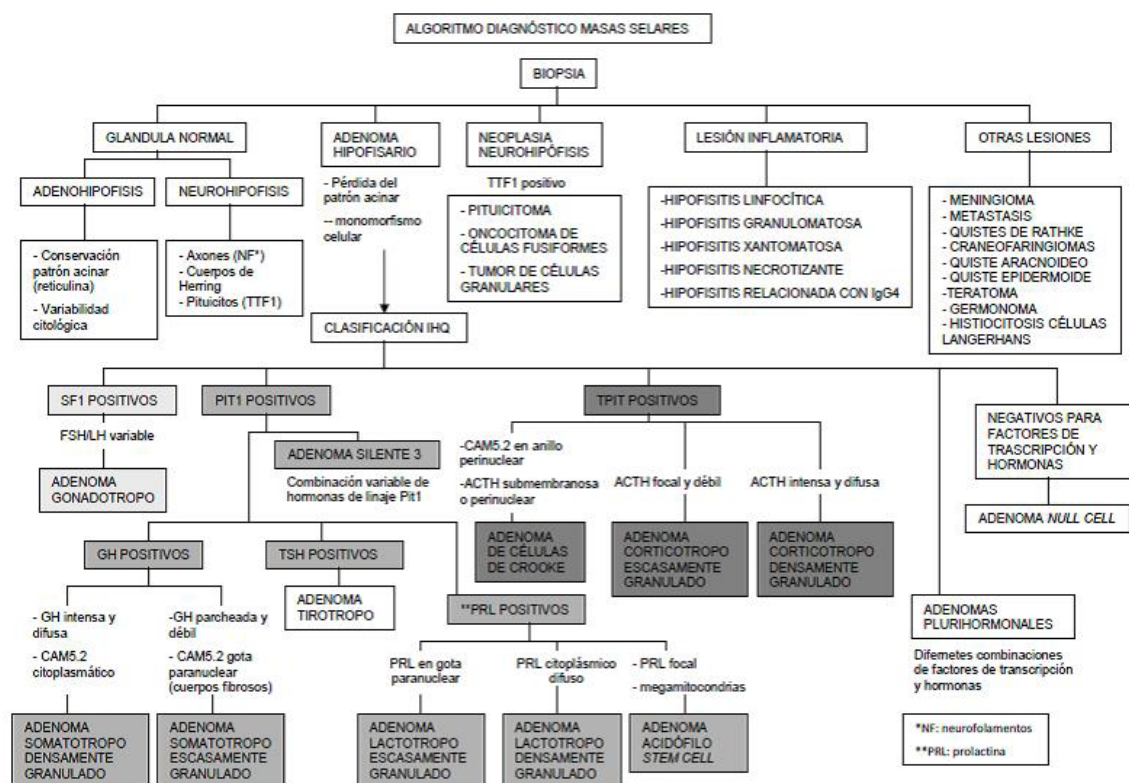
\* GH: hormona del crecimiento, TSH: hormona estimulante del tiroides (tirotropina); y ACTH: hormona adrenocorticotropa

**TABLA 2:** Asa SL. Practical pituitary pathology: what does the pathologist need to know? Arch Pathol Lab Med. 2008;132(8):1231-40.

Tumor	Factor de transcripción	Hormona (s)	CAM 5.2
<b>Adenomas que contienen GH</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A. somatotropos <ul style="list-style-type: none"> <li>- Densamente granulados</li> <li>- Escasamente granulados</li> </ul> </li> <li>• A. mammosomatotropos <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mixtos somatotropos-lactotropos</li> <li>- A. plurihormonales-productores de GH</li> </ul> </li> </ul>	<b>Pit-1</b>	GH α-subunidad GH,PRL, subunidad-α GH,PRL, subunidad-α, TSH-β	Perinuclear Cuerpos fibrosos
<b>Adenomas que contienen PRL</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A. lactotropos <ul style="list-style-type: none"> <li>- Densamente granulados</li> <li>- Escasamente granulados</li> </ul> </li> <li>• A. de células stem acidófilos</li> </ul>	<b>Pit-1, ER</b>	PRL PRL (difuso) PRL (patrón Golgi) PRL, GH	Cuerpos fibrosos
<b>Adenomas que contienen TSH</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A. tirotropos</li> </ul>	<b>Pit-1, TEF, GATA-2</b>	Subunidad-α, β-TSH	
<b>Adenomas que contienen ACTH</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Densamente granulados</li> <li>• Escasamente granulados</li> <li>• Adenomas de células Crooke</li> </ul>	<b>Tpit</b>	ACTH ACTH ACTH	
<b>Adenomas que contienen gonadotropinas</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A. gonadotropos</li> </ul>	<b>SF-1, ER, GATA-2</b>	Subunidad- α, β-FS- H,β-LH	
<b>Adenomas plurihormonales</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A. silentes subtipo 3</li> <li>• A. plurihormonales inusuales</li> </ul>	<b>¿Múltiple?</b>	Múltiple Múltiple	
<b>Adenomas hormono-negativos</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A. células null</li> </ul>	<b>Ninguno</b>	ninguna	

\* GH: hormona de crecimiento, Pit-1: factor de transcripción pituitario, PRL: prolactina, TSH: tirotropina, TEF: factor embrionario tirotropo, ACTH: hormona adrenocorticotropa, SF-1: factor esteroideogénico 1, RE: receptor estrogénico, FSH: hormona foliculoestimulante y LH: hormona luteinizante

**FIGURA 1:** modificado de Kleinschmidt-DeMasters BK, Lopes MB, Prayson RA. An algorithmic approach to sellar region masses. Arch Pathol Lab Med. 2015;139(3):356-72.





# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA HEPATOBIILIAR DE LA SEAP

*Coordinadora: Beatriz Madrigal Rubiales (bmadrigalru@saludcastillayleon.es)*





# Metodología básica de lectura de la biopsia hepática en patología no tumoral.

Beatriz Madrigal Rubiales, M<sup>a</sup> Angeles Torres Nieto

*Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid*

## I. INTRODUCCIÓN

Cuando nos enfrentamos a una biopsia hepática es esencial conocer la morfología del hígado normal, para saber reconocer las lesiones elementales relacionadas con las distintas estructuras anatómicas hepáticas.

Es importante seguir siempre una misma rutina en la lectura de la arquitectura y citología de las biopsias hepáticas, para poder encontrar las lesiones elementales que caracterizan los diferentes patrones lesionales (hepatítico, colestásico, patología biliar, cambios grasos...) o la asociación de varios de ellos en un determinado proceso.

Los patrones lesionales son característicos de cada patología, se repiten siempre o casi siempre, por lo que identificarlos nos ayudará para orientar los hallazgos hacia una hepatopatía concreta. Hay que recordar que aunque ante un estímulo concreto el tejido hepático suele reaccionar de manera uniforme, algunas patologías no lo afectan homogéneamente (como por ejemplo la colangitis esclerosante primaria (CEP)).

Inicialmente, se debe intentar evaluar la biopsia hepática sin conocer los datos clínicos para posteriormente realizar la correlación clínico-patológica.

## II. HÍGADO NORMAL

### 1. Tipos de biopsia

El tejido hepático se puede recibir como un cilindro obtenido por biopsia percutánea o transyugular, o como una cuña hepática subcapsular obtenida quirúrgicamente. En todos los casos el material se recibe en formol tamponado al 10%. Únicamente en los casos que se quiera valorar patología metabólica o evaluar la esteatosis con la técnica de Sudan, la biopsia se remitirá en fresco, congelándose inmediatamente a -70°C, preferiblemente con isopentano.

Según los diferentes autores un cilindrohepático debería medir entre 1 y 2 cm, e incluir al menos 10 espacios porta.

En todas las biopsias, pero sobre todo en la estadificación y gradación de la patología hepática crónica, conviene indicar en el informe el número de espacios porta identificados en la biopsia y si son adecuados, o insuficientes para una correcta valoración del proceso, porque una biopsia pequeña puede infradiagnósticar el grado de inflamación y fibrosis.

En la patología tumoral primaria o metastásica hepática es importante realizar un adecuado muestreo de la lesión. También en patologías con afectación heterogénea o parcheada del tejido hepático como en los procesos de etiopatogenia autoinmune o biliares entre otros.

En las cuñas subcapsulares la existencia de una cápsula fibrosa gruesa puede acompañarse de escaso parénquima valorable, o extenderse la fibrosis al parénquima simulando una cirrosis. La presencia de componente inflamatorio subcapsular no debe interpretarse como una hepatitis crónica. Hay que recordar que en localización subcapsular se pueden identificar con frecuencia los hamartomas biliares (complejos de von Meyenburg), adenoma de ductos biliares y hamartomas de glándulas peribiliares, todas ellas lesiones benignas que no se deben confundir con adenocarcinomas metastásicos en secciones en congelación.

En todos los tipos de muestra el tejido hepático puede encontrarse artefactado tanto por la toma de la muestra (p.e electrocauterio) como por el método de fijación (congelación).

Tanto en los cilindros como en la cuña subcapsular debemos reconocer los espacios porta, venas centrolobulillares y el lobulillo hepático.

Las técnicas que se usan de rutina para la valoración de las diferentes estructuras del tejido hepático junto con la hematoxilina/eosina (H/E) son el tricrómicro de Masson, ácido periódico de Schiff (PAS) y tras la digestión con diastasa (PAS-D), reticulina, Perls (hierro), rodanina y orceina (Shikatta).

## 2. Arquitectura hepática normal

### 2.1. Organización histológica del hígado:

En la actualidad se utiliza el concepto del acino hepático de Rappaport como unidad funcional hepática. El acino está centrado por el espacio porta que a través de los sinusoides drena en la vena terminal hepática o vena eferente. Así, se denomina zona 1 o periportal a los hepatocitos que rodean al espacio porta; zona 3, pericentral o centrolobulillar a los hepatocitos que rodean la vena central y zona 2 o mediozonal a los hepatocitos localizados entre ambas.

### 2.2. El espacio porta y la vena centrolobulillar:

#### a) Espacio Porta:

En todas las biopsias se debe identificar el número y tamaño de los espacios porta y valorar sus límites.

Los bordes en los espacios de mayor tamaño son redondeados o triangulares, y los de menor tamaño son ovales o redondeados.

Los espacios porta están sustentados en un tejido conectivo constituido por colágeno tipo I que se pone de manifiesto con el tricrómicro de Masson. Con el envejecimiento aumenta el colágeno tipo III, dando un aspecto más fibroso a los espacios, que se pone de manifiesto con las técnicas de reticulina

Hay que identificar los elementos de la triada portal: arteriola, vénula portal y ducto biliar interlobulillar. La arteriola y el ducto biliar interlobulillar suelen ir en parejas y tienen un diámetro similar, con una distancia entre ellos que como máximo es de dos veces el diámetro del ductobiliar interlobulillar. La ausencia del ducto biliar interlobulillar y persistencia de la arteriola en más del 50% de los espacios porta nos debe hacer pensar en un proceso ductopénico.

En espacios de mayor tamaño se identifican vasos linfáticos y fibras nerviosas.

En la arteriola se pueden identificar los cambios de la arterioesclerosis.

Se pueden encontrar células inflamatorias constituidas por escasos linfocitos en condiciones fisiológicas.

#### b) Vena centrolobulillar:

Hay que identificar la vena centrolobulillar (eferente) recordando que en función de la vascularización hepática el parénquima que la rodea es el peor irrigado y valorar si se mantiene la relación espacial entre los espacios porta y las venas.

## c) El lobulillo:

En condiciones normales, el lobulillo está constituido por trabéculas formadas por una hilera de hepatocitos; aunque en los niños y en los ancianos pueden estar formadas por dos hileras de células sin que indique patología.

Las trabéculas hepatocitarias están separadas por los sinusoides, por los que circula la sangre desde los espacios porta a las venas terminales hepáticas. En condiciones fisiológicas los sinusoides son prácticamente espacios virtuales, sin membrana basal, revestidos por células endoteliales, células de Kupffer y las células de Ito.

La hilera de hepatocitos localizados en contacto con el espacio porta se denomina placa limitante.

Con tinción de H/E los hepatocitos son células poligonales, de citoplasma eosinófilo, con un único núcleo central, de cromatina granular, que aparece basófilo. La presencia de binucleación, excepto en pacientes jóvenes, indica patología. Con el tricrómico de Masson los hepatocitos aparecen rojizos y el colágeno en verde. En condiciones fisiológicas el colágeno aparece únicamente en los tractos portales y en la íntima de la vena centrolobulillar.

En el citoplasma de los hepatocitos puede identificarse pigmento (lipofucsina, hemosiderina, bilis), lípidos (esteatosis macro y microvesicular) y glucógeno (también en el núcleo). Así, el citoplasma de los hepatocitos puede contener abundante glucógeno que se identifica con la técnica de PAS. El glucógeno también puede aparecer en los núcleos de los hepatocitos localizados en la zona 1, en patologías como la enfermedad de Wilson y la diabetes mellitus entre otras enfermedades.

En los hepatocitos centrolobulillares se pueden identificar gránulos de pigmento de degeneración pardo-amarillento correspondiente a lipofucsina, cuyo depósito aumenta con la edad.

Las trabéculas hepatocitarias están sustentadas a modo de andamio por la reticulina que es un colágeno tipo III, que se pone de manifiesto con las técnicas de plata, pero no se tiñe con el tricrómico.

Las técnicas de plata sirven para ver el aumento del grosor de las trabéculas en los procesos de regeneración hepatocitaria y el colapso de las fibras de reticulina en la necrosis de las hepatitis agudas. Para diferenciar entre un colapso reciente y una fibrosis antigua se utiliza la orceína que tiñe las fibras elásticas. Así, en el colapso de una necrosis en puentes la orceína es negativa, en cambio es positiva en un septo fibroso.

### 2.3.-La circulación biliar

En el seno del tejido conectivo portal encontramos el ducto biliar interlobulillar, que suele ir "en pareja" con la arteriola, con un diámetro similar en ambos. Es de morfología redondeada, está revestido por un epitelio cuboideo o columnar bajo, sustentado por una membrana basal PAS+ diastasa resistente y generalmente está localizado central en el tracto portal. En las áreas portales grandes se denomina ducto septal o segmentario.

En la interfase entre el tejido conectivo de los espacios porta y las trabéculas hepatocitarias se identifican los canales de Hering, mejor llamados colangiolo o ductulillo. En ellos desembocan los canalículos biliares. Los colangiolo se identifican muy ocasionalmente en condiciones fisiológicas. En cambio hay situaciones patológicas en las que se reconocen fácilmente, cuando hay proliferación de ductulillos en la periferia de los espacios porta, constituyendo la denominada "reacción ductulillar" o en situaciones de "colestasis ductulillar". Estos ductulillos tienen una morfología angulada y su diámetro puede ser superior al del ducto biliar interlobulillar.

Los canalículos biliares son espacios virtuales que no se aprecian con la H/E en condiciones fisiológicas. Están localizados en relación con el polo biliar entre dos hepatocitos. En la colestasis intracanalicular se pueden distinguir los canalículos biliares por la presencia de trombos biliares en ellos.

## III. LESIONES ELEMENTALES

### 1. Daño hepatocelular

Cuando los hepatocitos sufren cualquier daño, sea inflamatorio, tóxico, etc se producen alteraciones de su morfología que llevan a la degeneración y finalmente a la necrosis de la célula.

Se pueden identificar tres tipos de degeneraciones en la célula hepática:

- a) hidrópica o balonzante, en la que el hepatocito está aumentado de tamaño.
- b) acidofílica o apoptótica (cuerpo de Councilman).
- c) coagulativa o isquémica.

## 2. La necrosis hepática

Se definen distintos tipos de necrosis, teniendo en cuenta el número de hepatocitos afectados, la localización en el lobulillo y la extensión de la misma. Así, existen necrosis monocelular o "spotty necrosis", necrosis en grupos y necrosis confluentes.

La muerte o necrosis de hepatocitos individuales o en pequeños grupos se denomina "necrosis focal" y ocurre por apoptosis de las células. Se caracteriza por la desaparición célula a célula, de modo salpicado por el lobulillo. Se asocia a infiltrado inflamatorio incluyendo macrófagos. El término de "spotty necrosis" corresponde a este tipo de lesión en el contexto de las hepatitis agudas.

La "necrosis de interfase", erosiva o en sacabocados ("piecemeal necrosis") se caracteriza por la afectación necroinflamatoria de los hepatocitos que constituyen la placa limitante. Es común en las hepatitis virales crónicas. El infiltrado inflamatorio está constituido principalmente por linfocitos, con presencia o no de células plasmáticas y se acompaña de fibrosis.

La "necrosis en grupos" de hepatocitos puede observarse en localizaciones diferentes del lobulillo.

Las "necrosis confluentes" suceden cuando desaparecen grandes grupos de hepatocitos. Las causas más frecuentes son las hepatitis virales o por fármacos. Se acompañan de reacción inflamatoria. Necrosis confluentes con escasa reacción inflamatoria se observan en procesos de hipoperfusión del parénquima hepático como por ejemplo en shock y fallo ventricular derecho.

Las necrosis confluentes, según su extensión e intensidad, se clasifican en necrosis confluentes centrales, necrosis confluentes en puentes o necrosis panlobulillares (panacinar) y multilobulillares (multiacinares). Generalmente los puentes de necrosis se disponen entre espacios porta y venas centrales y caracterizan a las hepatitis agudas virales. En las necrosis panacinar y multiacinar el hígado está sufriendo una necrosis submasiva o masiva.

La denominada "necrosis blanda" que se asocia a ingesta de drogas, como el paracetamol o a la isquemia, se caracteriza por estar limitada a la zona 3 (centrolobulillar) o ser incluso panacinar, sin respetar los distintos territorios anatómicos y se asocia a mínima o ausente inflamación tanto portal como lobulillar. Puede acompañarse de proliferación ductulillar, cambios grasos hepatocitarios y a depósitos de hierro en las células de kupffer.

## 3. Inflamación

El infiltrado inflamatorio puede situarse en cualquiera de las localizaciones y estructuras anatómicas del tejido hepático.

Los neutrófilos son numerosos en:

- Obstrucción de grandes conductos biliares, en localización portal con reacción ductulillar asociada
- Colangitis ascendente
- Sepsis intra y extrahepática
- Hepatitis aguda de origen tóxico farmacológico, asociada a infiltrados linfoplasmocitarios
- Infección por citomegalovirus, en forma de agregados
- Daño por isquemia de reperusión en injertos hepáticos
- Hepatitis quirúrgica
- Hepatitis alcohólica

Los eosinófilos pueden aparecer en:

- Hepatitis crónicas virales y en hepatitis autoinmunes, en los espacios porta acompañando a infiltrados linfoplasmocitarios
- Cirrosis biliar primaria

- Rechazo celular en trasplante hepático
- Hepatitis de origen tóxico farmacológico
- En relación con granulomas causados por parásitos en forma de acúmulos en el lobulillo.

Las células plasmáticas son características de:

- Hepatitis autoinmune (HAI) tanto en localización portal como lobulillar
- Hepatitis virales agudas y crónicas (hepatitis A)
- Cirrosis biliar primaria (CBP)

Agregados y folículos linfoides pueden verse en:

- Hepatitis C que cursa con folículos linfoides grandes con centros germinales
- Cirrosis biliar primaria y hepatitis autoinmune
- Hepatitis B y C, CBP y CEP: folículos menos prominentes sin centros germinales (agregados linfoides)

#### 4. Fibrosis

Para valorar la presencia y el grado de fibrosis es necesario contar con una muestra adecuada tanto en longitud como en número de espacios porta, teniendo siempre en cuenta las características propias de la patología que estamos estudiando.

Utilizamos el tricrómico de Masson para valorar la localización y la intensidad de la fibrosis o depósitos de colágeno tipo I.

En la fibrosis portal se identifica una progresión con distintos estadios. El primero corresponde a la expansión fibrosa portal, con bordes irregulares estrellados, pudiendo disponerse entre los hepatocitos periportales y englobarlos. Dependiendo del número de espacios porta afectados la hepatopatía crónica se clasificará como leve, moderada o severa.

El siguiente paso en la progresión de la fibrosis, es el desarrollo de los puentes de fibrosis que se extienden entre dos espacios porta, o entre un espacio porta y una vena central.

La cirrosis correspondería a nódulos regenerativos de hepatocitos rodeados por bandas de fibrosis. Si los nódulos no están completamente rodeados por las bandas de fibrosis se denomina cirrosis incompleta o cirrosis septal incompleta.

La fibrosis también puede iniciarse en torno a la vena central (eferente) y su progresión puede originar septos incompletos primero y posteriormente evolucionar a completos.

Por último la fibrosis lobulillar se denomina habitualmente "fibrosis pericelular" o "perisinusoidal", observándose como un depósito difuso entre los hepatocitos por el aumento de todos los tipos de colágeno en el sinusoides.

El sinusoides es un tipo de vaso sanguíneo que carece de membrana basal, delimitado por la membrana de la célula hepática (en su polo vascular) y por un endotelio fenestrado. Cuando en este espacio se produce depósito patológico de material de membrana basal y colágeno de tipo III, se denomina "capilarización sinusoidal", ya que al colagenizarse el sinusoides se hace similar a un capilar.

La fibrosis lobulillar está en relación con hígado graso, drogas o patología crónica congestiva, mientras que la fibrosis portal o periportal se relaciona con hepatopatías crónicas. En éstas la fibrosis no afecta por igual a todos los espacios porta.

#### 5. Valoración inflamación y fibrosis

Para la valoración de la actividad necroinflamatoria (grado) y evaluación del momento evolutivo (estadio) nos hemos de fijar en el espacio portal o septal, la interfase periportal /periseptal y el lobulillo.

Si el infiltrado linfoplasmocitario es sólo portal, sin necrosis erosiva y se observa en la mayoría de los espacios porta (grado 1 de actividad portal) correspondería a una "hepatitis portal".

Cuando el infiltrado sobrepasa los límites del espacio porta y se asocia a necrosis erosiva (picemeal necrosis), correspondería a una "hepatitis periportal" clasificándose según su intensidad en leve, moderada o intensa (grados 2 a 4 de actividad periportal). La inflamación lobulillar y la necrosis (grados 1 a 3 de actividad lobulillar) o pérdida de hepatocitos varían desde necrosis individuales hasta necrosis confluentes o necrosis en puentes.

Acompañando a la actividad necroinflamatoria ocurre una remodelación de la arquitectura hepática con alteración de la relación entre los espacios porta y las venas centrales provocados por colapsos en la trama reticulínica, ampliación fibrosa portal con formación de septos y regeneración nodular final del parénquima (cirrosis). Esta evolución se corresponde a los diferentes estadios.

La evaluación de la arquitectura y actividad se puede hacer en forma semicuantitativa mediante los índices numéricos (índices de actividad y fibrosis histológicas). En la literatura hay varios índices (Scheuer, Knodel, METAVIR, Ishak), siendo el propuesto por Scheuer probablemente el más sencillo y reproducible.

En la actualidad se recomienda que en el diagnóstico anatomopatológico se utilicen términos descriptivos (hepatitis portal y periportal) indicando la actividad lobulillar y el estadio de fibrosis, acompañándose de posibles datos de su etiología.

## 6. Colestasis

Es la acumulación de bilis o pigmento biliar visible en el tejido hepático que no se observa en condiciones fisiológicas. La bilis puede estar localizada intracelularmente en el citoplasma de los hepatocitos o de las células de Kupffer o extracelularmente en los canaliculos (colestasis canalicular) o en los colangiolos (colestasis ductulillar). La causa más frecuente de colestasis ductulillar es la sepsis.

La colestasis canalicular es una forma de colestasis aguda. Se caracteriza por la presencia de trombos de bilis en canaliculos dilatados, es típicamente perivenular y puede acompañarse de colestasis hepatocelular.

En cambio en procesos biliares o colestásicos crónicos, el depósito de bilis se localiza en los hepatocitos periportales. Se asocia con la acumulación de cobre y de proteínas asociadas al cobre, que es lo que se conoce como "estasis de colatos", que puede ponerse de manifiesto con técnicas histoquímicas como la rodanina.

Las sales biliares transforman el aspecto de los citoplasmas hepatocitarios. La estasis de colatos da un aspecto claro a sus citoplasmas, denominado cambio "plumoso" o pseudoxantogranulomatoso ("*feathery degeneration*"). Los macrófagos kupfferianos acumulan material biliar y aparecen con citoplasmas muy microvacuolados ("espumosos").

## 7. Esteatosis

La esteatosis es el acúmulo anormal de lípidos en los hepatocitos, apareciendo como un espacio intracelular vacío en los cortes histológicos, debido a la desaparición de los lípidos en el procesamiento de los tejidos. En función de su tamaño se divide en esteatosis macrovacuolar o de gota gruesa y esteatosis microvacuolar o de gota fina. En la primera, el espacio vacío ocupa prácticamente todo el citoplasma, rechazando el núcleo a la periferia. En la microvesicular son gotas de pequeño tamaño dispersas por el citoplasma y manteniéndose el núcleo en localización central.

## 8. Cambios hepatocitarios

Hay una amplia variedad de leves cambios en los hepatocitos que se traducen con elevación de las enzimas hepáticas:

- Las megamitocondrias se identifican con frecuencia en patología del hígado graso y en patología colestásica crónica. En adultos se pueden identificar también en relación con tóxicos y en los niños asociados a patología mitocondrial y metabólica hereditaria.
- La inducción enzimática del retículo endoplásmico, se relaciona con toxicidad farmacológica (p.e. fenitoina, barbitúricos).
- Citoplasmas en vidrio esmerilado, en relación con infección por VHB o con fármacos (p.e. cianamida).

## IV. PATRONES LESIONALES HEPÁTICOS

### 1. Patrón hepatítico:

Es el más frecuente.

Se caracteriza por inflamación lobulillar predominantemente linfocitaria (linfocitos T) con cambios hepatocitarios que engloban desde apoptosis y balonización hepatocitaria a variable grado de necrosis. La necrosis puede afectar a hepatocitos individuales (spooty necrosis), grupos de hepatocitos o necrosis en puentes, extendiéndose desde venas centrales a venas centrales o desde venas centrales a espacios porta.

La colestasis puede estar presente en casos moderados/severos.

En los espacios porta el infiltrado inflamatorio es de predominio linfocitario y puede acompañarse de células plasmáticas, histiocitos o eosinófilos.

La causa específica de una hepatitis aguda no siempre es clara, siendo necesario hacer diagnóstico diferencial entre hepatitis agudas virales, de origen tóxico farmacológico o hepatitis autoinmune.

Posibles “pistas histológicas” acerca de la etiología:

- Infiltrados portales prominentes de células plasmáticas, aunque no es específico pueden sugerir una hepatitis autoinmune. En las hepatitis A y B pueden aparecer también numerosas células plasmáticas, sin embargo la presencia de células plasmáticas en el lobulillo iría a favor de una hepatitis autoinmune.
- Numerosos eosinófilos sugerirían un proceso tóxico farmacológico de tipo alérgico.
- Hepatitis colestásica con neutrófilos en el lobulillo sugeriría una hepatitis aguda por virus E.
- Linfocitosis sinusoidal con escaso daño hepatocitario sugeriría una hepatitis aguda por virus de Epstein Barr.
- Cambios citopáticos con inclusiones nucleares y acúmulos de neutrófilos sin zonalidad sugiere hepatitis por citomegalovirus.

## 2. Patrón obstructivo biliar

Por obstrucción de grandes ramas bilares derecha o izda, del hepático común o de ductos intrahepáticos grandes.

- Si es AGUDA se caracteriza por:
  - Edema en los espacios porta
  - Proliferación ductulillar
  - Inflamación portal mixta linfocitaria y neutrofílica
  - A veces se asocia a linfocitosis intraepitelial del ducto biliar interlobulillar, ligera distorsión del epitelio, pudiendo acompañarse de colangitis aguda (permeación por neutrófilos del ducto biliar interlobulillar)
  - Colestasis lobulillar, canalicular o ductulillar
- Si es CRÓNICA, como la que se produce en CEP, patología pancreática crónica con estenosis y en el trasplante hepático por estenosis de la anastomosis biliar, se caracteriza por:
  - Proliferación ductulillar
  - Fibrosis portal
  - Leve inflamación portal constituida por linfocitos y neutrófilos
  - Edema en espacios porta menos frecuente que en la aguda
  - Duplicación del ducto biliar interlobulillar

Otros cambios que pueden identificarse:

- Disminución ducto biliar interlobulillar
- Estasis de colatos
- Colestasis lobulillar
- Lesiones ductales fibro-obliterativas

## 3. Colestasis blanda lobulillar

La colestasis puede ser hepatocelular o canalicular. Cursa con espacios porta normales o con escasos cambios y mínima o ausente inflamación lobulillar.

En el contexto de una hepatitis aguda la causa más probable son los fármacos.

Puede identificarse en:

- la hepatitis por virus E, con escasa inflamación asociada
- en la obstrucción biliar puede aparecer colestasis lobular pero predominan los cambios portales
- la sepsis

#### 4. Hígado graso:

- Macrovesicular se asocia a:
  - Ingesta de alcohol
  - Síndrome metabólico (hipertensión, diabetes y obesidad).
  - Malnutrición
- Microvesicular se asocia a:
  - Drogas
  - Degeneración grasa alcohólica
  - Alteraciones mitocondriales

#### 5. Granulomas:

Los granulomas se observan aproximadamente en el 10% de las biopsias hepáticas, pudiendo identificarse su etiología en la mayoría de casos (infecciones y parásitos, respuestas inmunes, reacción a material extraño o a drogas). En la tercera parte de ellos no se puede identificar su etiología.

- Hay distintos tipos de granulomas:
  - Granulomas no necrotizantes con células gigantes e histiocitos epitelioides: se asocian a sarcoidosis y reacción a drogas.
  - Granulomas de tipo sarcoideo: en la CBP y en reacción a drogas.
  - Granulomas sin necrosis: pueden observarse en hepatitis por VHC.
  - Granulomas con necrosis: en infecciones tipo TBC (con necrosis de tipo caseoso central), hongos, bacterias y protozoos.
  - Granulomas de tipo cuerpo extraño, en relación con material extraño (talco, silicona, material de sutura) y organismos (esquistosomiasis).
  - Lipogranulomas en relación con rotura de hepatocitos esteatósicos (patología alcohólica).
  - Granulomas en anillo de fibrina: en relación con fiebre Q, infección por citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, hepatitis A, leishmaniasis e hipersensibilidad al alopurinol entre otros.
  - Granulomas incompletos en paciente VIH, en relación con infección por *Mycobacterium avium* intracelular.
- La localización de los granulomas dentro del parénquima hepático, nos puede orientar hacia diferentes patologías. Así:
  - Portal: CBP, sarcoidosis, esquistosomiasis.
  - Portal/periportal: sarcoidosis.
  - Portal y /o central: lipogranulomas
  - Cualquier localización: tuberculosis, drogas /fármacos, fiebre Q, citomegalovirus,

#### 6. Patrón de daño vascular

Dependiendo del componente vascular afectado se pueden identificar varios patrones:

1. Patrón obstructivo al flujo de salida venoso hepático como en el síndrome de Budd-Chiari o en patología cardíaca crónica. Hay dilatación y congestión sinusoidal y fibrosis en la zona 3. La intensidad de las alteraciones está en relación con la duración y severidad de la obstrucción.
2. Lesión del endotelio de venas centrales con variable grado de fibrosis y trombosis de las mismas. Se asocian a tratamiento quimioterápico, inflamación e infección de venas centrales o patología hepática asociada a ingesta de alcohol.



3. Daño en el endotelio sinusoidal con dilatación y congestión sinusoidal, se observa en relación con infecciones virales y drogas.
4. Patología asociada a la alteración del flujo vascular por pérdida de venas porta como en casos de trombosis portal, se caracteriza por hiperplasia nodular regenerativa y atrofia hepática.

## 7. Cambios sinusoidales

### 1. Patrón de hepatitis en resolución:

Este patrón se identifica casi siempre en toxicidad aguda idiosincrásica farmacológica o por drogas, cuando el tóxico se ha retirado algunas semanas antes de la toma de la biopsia. También se puede identificar en hepatitis agudas virales autolimitadas.

En el tejido hepático hay mínima o ausente inflamación, con acúmulos de macrófagos pigmentados en el lobulillo.

### 2. Síndromes de hiperviscosidad:

Este patrón se observa en pacientes con mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, policitemia vera y en patología autoinmune como artritis reumatoide, síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico.

La inflamación lobulillar es mínima o ausente, con variable grado de dilatación y congestión sinusoidal. Se puede acompañar de cambios regenerativos en el lobulillo y pleomorfismo nuclear probablemente por la isquemia crónica de bajo grado.

### 3. Dilatación sinusoidal:

La identificación de la congestión y dilatación sinusoidal es clave para evaluar las alteraciones en el flujo de salida vascular hepático. En procesos de largo tiempo de evolución se produce dilatación sinusoidal en la zona 3, asociada a atrofia hepatocitaria, con depósitos de hierro en las células de Kupffer, pudiendo o no aparecer fibrosis de la vena central o zona 3.

La dilatación sinusoidal puede verse también en relación con el efecto tóxico farmacológico (toma de anticonceptivos orales) y con patología neoplásica (enfermedad de Hodgkin, carcinoma de células renales).

## 8. Patrones de daño hepático crónico

Aunque la fibrosis hepática es un indicador de patología hepática crónica, hay algunos procesos crónicos que producen escasa fibrosis, acompañándose de otros cambios que pueden alertarnos de un proceso hepático crónico, como son:

### 1. Ductopenia: es la disminución o pérdida del ducto biliar interlobulillar. Se identifica en:

- Patología crónica del sistema biliar: CBP y CEP
- Rechazo crónico del injerto hepático
- Síndromes paraneoplásicos
- Toxicidad farmacológica

### 2. Lesiones ductales fibroobliterativas: corresponde al reemplazamiento del ducto biliar interlobulillar por una cicatriz fibrosa.

En fases iniciales de la lesión se observa una fibrosis lamelar periductal a modo de "capas de cebolla", con atrofia del ducto.

Aparece en la obstrucción crónica del árbol biliar extrahepático. Es raro observarlas en las biopsias de rutina.

### 3. Acumulación hepatocitaria de hierro y cobre: Los depósitos de cobre fuera de la enfermedad de Wilson son indicadores de patología colestásica crónica en hígados no cirróticos.

La acumulación de cobre se produce en hepatocitos periportales y es focal y escasa.

Se pueden identificar en la CBP, CEP y en procesos colestásicos crónicos. Pero también en procesos hepáticos crónicos que desarrollen colestasis crónica de tipo tóxico farmacológico, hepatitis crónicas

virales y en hepatopatía alcohólica. E incluso se pueden observar depósitos de cobre en hepatocarcinomas y en hiperplasias nodulares focales debido a colestasis crónicas.

A modo de resumen, en el siguiente esquema se incluye una guía con los datos que se deben tener en cuenta al valorar una biopsia hepática:

<b>INFORME ANATOMOPATOLÓGICO DE LAS BIOPSIAS HEPÁTICAS EN PATOLOGÍA NO TUMORAL.</b>
<p><b>DATOS CLÍNICOS</b></p> <p><b>DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA</b></p> <p>1.- Tipo de biopsia</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cilíndrica: percutánea, transyugular guiada por ecografía o por TAC</li> <li>- Cuña subcapsular</li> <li>- Resección</li> </ul> <p>2.- Dimensiones</p> <p><b>HALLAZGOS MICROSCÓPICOS</b></p> <p>1.- Adecuación de la muestra:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- tamaño superior 2-2,5 cm</li> <li>- &gt; de 10 espacios porta</li> </ul> <p>2.- Artefactos</p> <p>3.- Localización de la biopsia (subcapsular, perihiliar, parenquimatosa)</p> <p>4.- Valoración de la arquitectura</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Conservada</li> <li>- Parcial o totalmente distorsionada</li> </ul> <p>5.- Valoración de los espacios porta:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Normales ( triada portal presente)</li> <li>- Inflamación (tipo, extensión, actividad/hepatitis de interfase)</li> <li>- Edema</li> <li>- Fibrosis (extensión y patrón)</li> <li>- Ducto biliar (tipo de lesión, inflamación, disminución, proliferación ductulillar biliar).</li> <li>- Estructuras vasculares (inflamación y fibrosis)</li> </ul> <p>6.- Valoración del lobulillo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cambios degenerativos y regenerativos</li> <li>- Inflamación (tipo, extensión y distribución zonal)</li> <li>- Necrosis (tipo, distribución zonal y extensión)</li> <li>- Sinusoides (inflamación, dilatación, depósitos)</li> </ul> <p>7.- Vena central (vénula hepática terminal o eferente)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tamaño</li> <li>- Inflamación</li> <li>- Fibrosis</li> </ul>
<b>DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO:</b>
<b>CORRELACIÓN CLÍNICOPATOLÓGICA</b>

## V. CORRELACIÓN ANATOMOCLÍNICA

Una vez realizado el estudio microscópico e identificados los hallazgos histopatológicos dentro de un determinado patrón lesional, se deben valorar en el contexto clínico del paciente, teniendo en cuenta las pruebas de función hepática, los estudios inmunológicos y serológicos y los hallazgos de las pruebas de imagen, realizándose finalmente una correlación con las lesiones encontradas.

## **Bibliografía**

1. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR cooperative study group. *Hepatology* 1994; 20: 289-293.
2. Carpenter HA, Czaja AJ: The role of histologic evaluation in the diagnosis and management of autoimmune hepatitis and its variants. *Clin Liver Dis* 2002; 6: 397-417.
3. Colina F. Protocolo de lectura de biopsias hepáticas con esteatohepatitis. *Rev Esp Patol* 2000, 33 (4): 347-356.
4. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, et al. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*: 2003; 39 (2): 239-244.
5. DeLeve LD, Valla D-C, Garcia-Tsao G. Vascular disorder of the liver. *Hepatology* 2009; 49: 1729- 1764.
6. Ferrell LD. Hepatic granulomas a morphologic approach to diagnosis. *Surg Pathol* 1990; 3 (87-1169).
7. Geller SA, Petrovic LM (eds). *Biopsy interpretation of the liver*. 2<sup>nd</sup> Edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
8. Goodman ZD. Drug hepatotoxicity. *Clin Liver Dis* 2002, 6: 381-398.
9. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2007; 47:598-607.
10. Ishak KG. Pathologic features of chronic hepatitis. A review and update. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 40-55.
11. Knodell RG, Ishack KG, Black ws, et al. Formulation and application of a numeric scoring system for assessing histological in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-435.
12. Lefkowitz JH. Liver biopsy assessment in chronic hepatitis. *Arch Med Res* 2007; 38: 634-643.
13. Lefkowitz JH. *Scheuer's Liver Biopsy Interpretation*. 8<sup>nd</sup> Edn. Philadelphia Saunders Elseiver. 2010.
14. Li MK, Crawford JM: The pathology of cholestasis. *Semin Liver Dis* 2004: 24:21-24.
15. Ludwig J, Batts K. *Practical Liver Biopsy Interpretation: Diagnostic Algorithms* 2<sup>nd</sup>. Chicago, IASCP Press, 1998.
16. Mammen T, Keshava SN, Eapen CE et al- Transyugular liver biopsy: a retrospective analysis of 601 cases. *J Vas Interv Radiol* 2008: 19:351-358.
17. McFarlane IG. Definition and classification of autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002; 22:317-324.
18. Olsson R, Hägerstrand I, Bronnmé U, et al. Sampling variability of percutaneous liver biopsy in primary sclerosing cholangitis. *J Clin Pathol*. 1995; 48 (10):933-935.
19. Ozde RD, Goldblum JR (eds). *Surgical Pathology of the GI tract, Liver, Biliary tract and Pancreas*. 2<sup>nd</sup> Edn. Philadelphia: Saunders Elseiver, 2009.

20. Petrelli M, Scheuer PJ. Variation in subcapsular liver structures and its significance in the interpretation of wedge biopsies. *J Clin Pathol* 1967;20: 273-748.
21. Portmann BC, Nakanuma Y, Diseases of the bile ducts. In: Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, eds. *MacSween's Pathology of the liver*. 5<sup>th</sup> edn. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier, 2007: 517-582.
22. Ramachandran R, Kakar S. Histological patterns in drug-induced liver disease. *J Clin Pathol*. 2009; 62 (6):481-492.
23. Rappaport AM. The microcirculatory acinar concept of normal and pathological hepatic structure. *Beitr Pathol* 1976; 157: 215-243.
24. Roskams T, Desmet VJ, Verslype C. Development, structure and function of the liver, In Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, eds. *MacSween's Pathology of the liver*. 5<sup>th</sup> Ed. London: Churchill Livingstone, 2007:1-73.
25. Roskams TA, Theise ND, Balabaud C, et al: Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers. *Hepatology* 2004; 39: 1739-1745.
26. Roskams T, Desmet V. Ductular reaction and its diagnostic significance. *Semin Diagn Pathol* 1998; 15:259-269.
27. Scheuer PJ, Standish RA, Dhillon AP: Scoring of chronic hepatitis. *Clin Liver Dis* 2002; 6: 335-347.
28. Schiano TD, Azeem S, Bodiam CA, et al. Importance of specimen size in accurate needle liver biopsy evaluation of patients with chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3(9): 930-935.
29. Snover DC. Technical aspects of the evaluation of the liver biopsies. In: Snover, ed. *Biopsy Diagnosis of liver Disease*. Baltimore. Williams & Wilkins, 1992: 1992:2-23.
30. Suriawinata AA, Thung SN. Liver: In Mills SE, ed. *Histology for Pathologist- 3<sup>rd</sup> Ed*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007, 685-703.
31. Theise ND, Bodenheimer HC, Ferrel LD Jr. Acute and chronic viral hepatitis. In: Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, eds. *MacSween's Pathology of the liver*, 5<sup>th</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier, 2007: 399-442.
32. Wanless R. Vascular disorders. In: Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, eds. *MacSween's Pathology of the liver*. 5<sup>th</sup> edn. Edinburgh. Churchill Livingstone/Elsevier 2007. 613-648.
33. Whahington MK. Autoimmune liver disease: overlap and outliers. *Mod Pathol* 2007; 20 S15-S30.

# COLANGIOPATÍAS

Carolina Ibarrola, Yolanda Rodríguez-Gil, Javier Salamanca, Guadalupe López-Alonso.

*Anatomía patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.*

## I. INTRODUCCIÓN

Las colangiopatías se definen como las patologías que afectan a los ductos biliares extrahepáticos y/o intrahepáticos y que provocan como consecuencia colestasis de causa extra o intrahepática. La patología que afecta a los ductos biliares extrahepáticos o a los intrahepáticos grandes se identifica en la mayor parte de los casos en las pruebas de imagen no llegando a biopsiarse el hígado generalmente. En una obstrucción completa de estos ductos biliares grandes el hígado muestra bilirrubinostasis desde el inicio (colestasis de pigmento biliar en canaliculos y hepatocitos), seguida de edema portal y reacción ductulillar (proliferación ductulillar acompañada de neutrófilos) bastante simétrica en la interfase portal. Si la obstrucción es incompleta la reacción ductulillar es asimétrica, y la bilirrubinostasis y signos clínicos de ictericia suelen producirse más tardíamente, dando tiempo al hígado a desarrollar signos indicativos de colestasis crónica en el parénquima (xantomización, depósito de cobre, etc.) y a desarrollar fibrosis biliar en forma de septos portales que pueden evolucionar a una verdadera cirrosis.

Las colestasis intrahepáticas y/o las colangiopatías de ductos pequeños intrahepáticos son las que más frecuentemente pueden plantear dudas diagnósticas clínicamente y las que más frecuentemente llegarán a biopsiarse. Estas colestasis intrahepáticas puede deberse no solo a diversos tipos de colangiopatías sino también a causas relacionadas con disfunción hepatocelular y no con lesión de ductos biliares. Hay que considerar por tanto que la reacción ductulillar, los signos de colestasis crónica y la fibrosis no son exclusivos de las colangiopatías crónicas y que pueden aparecer también en colestasis crónicas de causa hepatocelular. Las colangiopatías intrahepáticas en las que se centrará esta revisión son la cirrosis-colangitis biliar primaria (CBP) y la colangitis esclerosante primaria (CEP). Esta última puede afectar tanto a ductos intrahepáticos pequeños (no visibles en colangiografías) como a ductos grandes y extrahepáticos.

La biopsia no siempre es necesaria para el diagnóstico, pero a veces sí será definitiva en casos dudosos (lesión ductal florida en la cirrosis biliar primaria, proliferaciones anómalas de ductos en las malformaciones de la placa biliar). Otras veces solo aportará cambios mínimos inespecíficos (debido a un error de muestreo por la afectación parcheada de los tractos porta) o bien llegará a decir que se trata de una hepatopatía colestásica aguda o crónica (¿hepatocelular o de origen biliar?) o sugerirá su origen biliar (ductopenia, lesiones ductales). Por último, habrá veces donde el único diagnóstico sea el de hepatopatía crónica con fibrosis y colestasis, sin poder definir si se trata de patología colestásica o de colestasis en el seno de otra patología (en cirrosis por otras causas). La biopsia también ayuda a predecir el pronóstico (grado de necroinflamación, grado de ductopenia y estadio de fibrosis) y sirve para excluir o confirmar otros procesos que pueden confundir clínicamente con colangiopatía, como puede

ser la esteatohepatitis, en la que a veces se producen anticuerpos antinucleares (ANA) positivos con aumento de fosfatasa alcalina (FA) y de gammaglutamiltransferasa (GGT).

A continuación, se expone el diagnóstico diferencial de las principales etiologías asociadas a colestasis intrahepática y de las lesiones biliares en los distintos tipos de colangiopatías:

### Causas de colestasis intrahepática en adultos

1. Colestasis por disfunción hepatocelular: Sepsis, colestasis inducida por endotoxemia, hepatitis víricas, esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica, inducida por fármacos o nutrición parenteral, alteraciones genéticas como deficiencia de CIRB, PFIC, ABCB4, colestasis intrahepática de la embarazada (CIE), protoporfiria eritropoyética, trastornos infiltrantes malignos como alteraciones hematológicas o cáncer metastásico, trastornos infiltrantes benignos como amiloidosis, sarcoidosis y otras granulomatosis, enfermedades de almacenamiento o depósito, síndromes paraneoplásicos (como Hodgkin y carcinoma renal), hiperplasia nodular regenerativa, alteraciones vasculares como síndrome de Budd–Chiari, trastornos veno-oclusivos, hepatopatía congestiva, cirrosis (cualquier origen).
2. Colestasis Colangiocelular (por patología en los ductos biliares intrahepáticos: colangiopatías): Cirrosis biliar primaria (CBP), colangitis esclerosante primaria (CEP), síndromes de superposición de CBP y CEP con hepatitis autoinmune (HAI), colangitis esclerosante secundaria, colangitis asociada a IgG4, ductopenia idiopática del adulto, malformaciones de la placa ductal, colangiopatía inducida por fármacos, enfermedad de injerto contra huésped, malformaciones de la placa ductal.

### Causas de colestasis intrahepática en la infancia.

- Enfermedad Metabólica
  - Con implicación del ducto biliar: Deficit de  $\alpha$  1-antitripsina, fibrosis quística
  - Sin implicación del ducto biliar: galactosemia, tirosinemia, defectos en la oxidación de ácidos grasos, lípidos, trastornos en el almacenamiento de glucógeno y trastornos peroxisomales.
  - Defectos específicos de la función biliar: Trastornos en la biosíntesis de ácidos biliares y conjugación, y trastornos de la excreción.
- Ductopenias idiopáticas: sindrómica (Síndrome de Alagille) y no sindrómica
- Malformaciones de la placa ductal.
- Infecciones: bacterianas, víricas.
- Tóxicas: nutrición parenteral, fármacos.
- Cirrosis hepática idiopática neonatal (de cualquier origen)

### Lesiones biliares típicas y sus principales causas.

- Colangitis granulomatosa: Colangitis biliar primaria, colangitis inducida por fármacos (carbamecepina, clorpromacina, tolbutamida, amoxicilina-clavulánico), sarcoidosis, enfermedad de Hodgkin.
- Colangitis linfocitaria o mixta: Rechazo agudo postrasplante, enfermedad de injerto contra huésped, colangitis asociada a fármacos, ductopenia idiopática del adulto, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, colangitis asociada a hepatitis autoinmune o a hepatitis viral por virus C, B o E y déficit ABCB4.
- Colangitis obliterativa fibrosa: Colangitis esclerosante primaria, colangitis esclerosante secundaria, colangitis asociada a IgG4, sarcoidosis, colangitis farmacológica.
- Otras colangitis (inusuales): Linfoma (Hodgkin y no Hodgkin), mastocitosis sistémica, histiocitosis de células de Langerhans, colangitis neutrofílica: dermatosis neutrofílica.
- Malformaciones de la placa ductal: Hamartomas biliares (Complejos de von Meyenburg), enfermedades poliquísticas, Síndrome de Caroli, Fibrosis hepática congénita.
- Ductopenias sin inflamación: Ductopenia idiopática del adulto, en trasplante de médula ósea, enfermedad de injerto contra huésped crónica, ductopenia paraneoplásica.

## II. COLANGITIS BILIAR PRIMARIA (CIRROSIS BILIAR PRIMARIA)

### Definición

Colangitis crónica no supurativa autoinmune en la que se produce destrucción inflamatoria (mediada por linfocitos T) selectiva de los ductos biliares interlobulillares y septales. La terminología ha cambiado sustituyendo el término de "cirrosis" por el de colangitis, al ser más descriptivo del proceso y de su evolución actual, ya que con el tratamiento con ácido ursodesoxicólico la esperanza de vida suele ser normal salvo en un pequeño porcentaje de casos que desarrollan cirrosis.

### Clínica

Afecta predominantemente a mujeres (90%) entre 40 y 60 años (20 - 80 años). Se asocia con frecuencia a otras enfermedades autoinmunes (tiroiditis autoinmune, enfermedad de Sjogren). Se manifiesta por colestasis disociada con aumento de GGT y de la FA y con o sin síntomas (fatiga, prurito) al inicio. Las transaminasas son normales o discretamente elevadas. La bilirubina sérica se eleva en estadios avanzados y concentraciones elevadas indican mal pronóstico. Si los niveles de transaminasas se elevan más de 5 veces por encima de su valor normal hay que sospechar un componente-síndrome de superposición con hepatitis autoinmune.

En el suero se detectan típicamente niveles elevados de IgM y anticuerpos antimitocondriales (AMA). También pueden detectarse marcadores de mayor especificidad como anti-AMA-M2 o anti-PDC-E2, anti-Sp100 y anti-gp210. Los AMA M2 se encuentran en un 95% de los casos y tienen una especificidad del 98%. Además, pueden detectarse otros anticuerpos como ANA hasta en el 70%, anticentromero, anti-SSA/Ro y anti-dsDNA.

En el 5-8% de los casos no se detectan anticuerpos antimitocondriales. Estos casos se han denominado CBP AMA negativos (colangitis autoinmune en terminología más antigua). Sus características y evolución no difieren de los casos AMA positivos y a veces acaban detectándose AMAs al repetir las determinaciones o con tecnologías avanzadas.

### Criterios diagnósticos e Indicaciones de la biopsia hepática

El diagnóstico se establece en ausencia de obstrucción biliar o de otra comorbilidad hepática por la presencia de al menos dos de los tres siguientes parámetros: FA al menos 1.5 veces por encima del límite normal; presencia de anticuerpos antimitocondriales a título de 1:40 o más; evidencia histológica de colangitis no supurativa destructiva y/o de ductopenia.

La biopsia no suele ser necesaria para el diagnóstico, aunque puede dar idea del estadio y pronóstico. Se emplea sobre todo si hay dudas en el diagnóstico, dudas con síndrome de superposición con hepatitis autoinmune o ante una respuesta inadecuada al tratamiento con ácido ursodesoxicólico.

### Histopatología

El hallazgo morfológico característico es la llamada lesión ductal florida, que consiste en una colangitis crónica no supurativa linfocitaria o frecuentemente granulomatosa (colangitis granulomatosa) afectando a los ductos biliares intrahepáticos, interlobulillares y septales selectivamente, que mostrarán lesión de su membrana basal y epitelio. Es una colangitis destructiva que progresa a ductopenia, colestasis crónica, fibrosis-cirrosis y finalmente fallo hepático. Los granulomas epitelioides son no necrotizantes, frecuentemente mal conformados, y pueden verse además en el intersticio portal sin centrar el ducto o en el lobulillo. Algunas veces son grandes, bien conformados y con células gigantes de tipo Langhans. La ductopenia relevante se define en los tractos porta pequeños interlobulillares como la ausencia de ducto (arteria no acompañada de su ducto) en el 50% de los tractos, que deben verse completos para esta evaluación y evaluando al menos 10 tractos porta, aunque muchos autores no indican este último requerimiento. La ausencia de ducto interlobulillar en el 20% -50% de los tractos sugiere ductopenia inicial o leve y debe ser también referida en el informe anatomopatológico. Hay que tener en cuenta que en los tractos porta septales siempre hay ducto en condiciones normales.

El evento inicial de la enfermedad es una inflamación confinada al espacio porta con una densidad variable de linfocitos, histiocitos, neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas. A veces el infiltrado linfoplasmocitario es muy denso y pueden formarse grandes agregados foliculares. Este infiltrado tiende a situarse alrededor del ducto biliar y pueden o no verse las lesiones ductales floridas en esta fase. En el lobulillo la inflamación es mínima, linfocitaria y parcheada, sin necrosis hepatocitaria relevante. Posteriormente la inflamación se extiende al área periportal y pueden observarse dos formas de hepatitis de interfase, bien de tipo hepatítico de grado leve y parcheada, o bien de tipo biliar (reacción ductulillar con fibrosis periductulillar). A veces se puede observar no sólo proliferación ductulillar sino también proliferación ductal, que es un signo más específico de colangiopatía. Una hepatitis de interfase de tipo hepatítico o una hepatitis lobulillar en grados moderado o intenso debería ser reportadas ya que serían sugestivas de hepatitis autoinmune asociada lo que implicaría, sobre todo en caso intenso, añadir corticoides o inmunosupresores al tratamiento. Las lesiones ductales en esta fase se hacen más frecuentes y puede iniciarse ya el depósito de cobre en hepatocitos periportales (se verá con las técnicas histoquímicas de rodanina o ácido rubeánico que detecta el cobre o con orceína-Shikata que detecta la apoproteína transportadora del cobre). La evolución es a fibrosis, formando septos portales incompletos y completos, y a ductopenia intensa con signos de colestasis crónica en el parénquima (rosetas colestásicas, canalículos abiertos, cúmulos de histiocitos espumosos xantomatosos, cambio balonzante plumoso hepatocitario periportal, esmerilización hepatocitaria pericentral, cuerpos de Mallory-Denk). La progresión a ductopenia es variable entre los distintos espacios porta de un mismo paciente y entre los distintos pacientes. La bilirrubinostasis suele aparecer en estos estadios finales y asocia mal pronóstico. Finalmente se desarrolla una cirrosis que muchas veces tiene morfología en "guirnalda" y es de tipo biliar (con proliferación ductulillar y halo claro periportal por el cambio claro hepatocitario). No obstante es en esta fase de cirrosis donde el diagnóstico de CBP puede resultar más difícil: las lesiones ductales floridas pueden verse en todos los estadios, pero son menos frecuentes en estadios avanzados; la valoración de la ductopenia es además más complicada en la cirrosis, porque la proliferación ductulillar en los septos se confunde con el ducto y la proliferación de arterias en estos septos ya no permite buscar el ducto junto a la arteria original.

### Inmunohistoquímica

Diversos autores recomiendan utilizar la CK7 o de la CK19 para identificar los ductos biliares y así evitar sobrediagnosticar la ductopenia. Hay que tener cuidado de no confundir los ductos biliares con los ductulillos de la reacción ductulillar, que también se tiñen. También se ha propuesto que la tinción aberrante con CK7 en los hepatocitos periportales puede servir como marcador de colestasis crónica y para evaluar su grado (evolución de la tinción de periportal a lobulillar difusa). Igualmente, una tinción de células plasmáticas con IgM igual o mayor que con IgG puede apoyar el diagnóstico de CBP frente a hepatitis autoinmune. En la hepatitis autoinmune predominan las células plasmáticas IgG mientras que en la CBP aumentan las IgM igualando o sobrepasando a las IgG.

### Sistemas de estadificación histológica

Los principales parámetros histológicos con significado pronóstico negativo son la fibrosis avanzada, la hepatitis de interfase o lobulillar moderadas-intensas, la colestasis intensa y la ductopenia relevante y se correlacionan además con los test bioquímicos.

Los sistemas clásicos de estadificación más utilizados son el de Scheuer (estadio 1: lesión ductal florida; estadio 2: proliferación ductulillar; estadio 3: fibrosis septal; estadio 4: cirrosis) y el de Ludwig (estadio 1: hepatitis portal; estadio 2: hepatitis periportal; estadio 3: fibrosis septal; estadio 4: cirrosis). Los parámetros pronósticos se mezclan en estos sistemas y su reproducibilidad es desconocida.

Se han propuesto más recientemente otros sistemas. Uno de ellos es el sistema japonés propuesto por Y. Nakanuma y col. en 2006 que realiza un score de la actividad según el grado de colangitis y hepatitis y un score de estadio sumando grado de fibrosis, de ductopenia y cantidad de cobre con técnica histoquímica de Shikata. Otro sistema es el llamado sistema F.B.I (fibrosis, biliar-ductopenia, inflamación-hepatitis) propuesto



por D. Wendum y col. de la escuela francesa en 2015 que valora independientemente la fibrosis en 5 estadios (F0=no fibrosis, F1= fibrosis portal/periportal sin septos, F2=fibrosis portal con pocos septos, F3= numerosos septos, F4=cirrosis), la ductopenia (estimando el porcentaje de tractos porta con al menos un ducto frente al número total de tractos ) y la hepatitis de interfase (vista con objetivo 20x y haciendo 3 grados: 0=ausente, 1=leve o hepatitis de interfase focal en menos del 50% de los tractos porta, 2= moderada, 3=intensa con afectación continua de toda la periferia del tracto y afectando a más del 50% de los tractos) . Aunque realmente no se conoce bien la reproducibilidad de estos cuatro sistemas, el sistema francés aporta los datos principales pronósticos y de decisión terapéutica, y resulta más simple en su aplicación que el japonés. No mezcla parámetros pronósticos y tiene una reproducibilidad intra e interobservador aparentemente aceptable. El sistema francés, a diferencia del japonés, no valora el grado de colangitis en base a que la afectación de ductos es aleatoria y depende del muestreo de la biopsia. Tampoco valora el grado de depósito de cobre como grado de colestasis crónica, porque se correlaciona con la FA sérica y considera que ésta tiene el mismo valor para este fin. El sistema está pendiente de validación definitiva ya que la serie empleada en el estudio fue pequeña. Por último, hay que tener en cuenta que, aunque la histología es el gold Standard para evaluar la progresión de la enfermedad, el hecho de que es una técnica invasiva y el hecho del posible error de muestreo, hace que en la práctica clínica se utilicen otros parámetros como las técnicas de imagen (elastografía) y datos clínicobioquímicos para la evaluación y seguimiento de la enfermedad.

#### Consideraciones importantes en la colangitis biliar primaria

1. El desarrollo de la cirrosis no es uniforme en todo el hígado y pueden verse simultáneamente características de distintos estadios en una misma biopsia. El estadio viene definido por el hallazgo en la biopsia que indique el estadio más avanzado.
1. Es frecuente el error de muestreo debido a la afectación heterogénea de los espacios porta, lo que hace que no siempre se vea la lesión ductal típica en las biopsias percutáneas. Lógicamente su detección aumenta a mayor número de espacios porta muestreados. Las biopsias pueden mostrar como alternativas diagnósticas: cambios mínimos, infiltrados inflamatorios portales, cambios indicativos de colestasis crónica o ductopenia. Ante estos eventos es recomendable la seriación del material para aumentar la posibilidad de detección de la lesión ductal característica. Ante una alta sospecha clínica, pero con características normales- cambios mínimos o infiltrados inespecíficos en la biopsia debe añadirse al diagnóstico el comentario de que no puede descartarse totalmente una colangiopatía debido al posible error de muestreo por la distribución parcheada de las lesiones ductales.
2. Existe una pequeña proporción de casos en los que se produce ductopenia intensa en estadios tempranos, apareciendo colestasis intensa que requiere trasplante sin haber evolucionado la enfermedad a cirrosis (variante ductopénica de la CBP).
3. Es relativamente frecuente desde estadios tempranos la asociación de hiperplasia-atrofia en el parénquima (hiperplasia nodular regenerativa más o menos regular) que suele ser leve pero que en ocasiones puede ser marcada o puede asociar signos histológicos de venopatía portal intrahepática obliterativa. Estos hallazgos se asocian a mayor riesgo de desarrollo de hipertensión portal en estadios precirróticos, incluso tempranos, con indicación incluso de trasplante. Por ello, es también recomendable añadir esta valoración en el informe.
4. Aproximadamente un 10% de los pacientes tienen un síndrome de superposición con hepatitis autoinmune. Se ha asociado a mayor riesgo de fibrosis e hipertensión portal e implica asociar esteroides e inmunosupresores al tratamiento. No está claro si se trata de otra entidad diferente, de un componente de la CBP o de variantes de la CBP. La CBP y la hepatitis pueden aparecer de forma simultánea o consecutiva. Los criterios diagnósticos de síndrome de superposición están abiertos a debate. Un porcentaje considerable de hepatitis autoinmunes muestran signos de colestasis con FA sérica elevada, proliferación ductulillar o lesiones ductales, e incluso algunos casos pueden tener AMA positivos, lo que no es suficiente para un diagnóstico de síndrome de superposición, pero obliga a estudiar anticuerpos AMA, gp210 y sp100 para descartar CBP y a realizar colangiografía para descartar CSP. Se ha propuesto que

para un diagnóstico de superposición de hepatitis autoinmune con CBP deben cumplirse al menos 2 de las 3 características de la CBP (F.Alcalina  $>2\times$  ULN o GGT  $>5\times$  ULN; AMA mayor de 1:40; biopsia hepática mostrando lesiones ductales floridas) y al menos 2 de las 3 características de la hepatitis autoinmune (GPT  $>5\times$  ULN; IgG  $>2\times$  ULN o anticuerpos antimúsculo liso positivos; biopsia hepática mostrando hepatitis de interfase moderada o intensa). Se ha añadido que es mandatoria la biopsia para el diagnóstico de la hepatitis de interfase.

### III. COLANGITIS ESCLEROSANTE PRIMARIA

#### Definición

Enfermedad colestásica crónica caracterizada por una inflamación crónica del árbol biliar de etiología desconocida que causa estenosis segmentarias (arrosariamiento) por fibrosis obliterativa ductal y ectasias del árbol biliar intrahepático, extrahepático o de ambos, con ductopenia, colestasis crónica y finalmente cirrosis biliar secundaria.

La colangitis esclerosante de ductos pequeños es una variante que no muestra las características típicas colangiográficas y que se diagnostica por la clínica de colestasis crónica y por la biopsia con histología típica de colangitis fibroobliterativa en ausencia de causas de colangitis esclerosante secundarias. Supone el 5% de los casos y la mayor parte de los casos muestra enfermedad inflamatoria intestinal crónica asociada.

#### Clínica

La etiopatogenia es desconocida (trastornos de la inmunidad, potenciales agentes tóxicos o infecciosos del intestino, daño isquémico de los conductos biliares y quizá una alteración de los transportadores hepatobiliares). A diferencia de otras enfermedades de base inmune no responde bien a inmunosupresores, predomina en varones y no hay correlación de los anticuerpos con otros parámetros clínico-bioquímicos.

Afecta predominantemente a la 4ª o 5ª década de la vida, aunque puede ocurrir a cualquier edad, incluyendo la infancia. Puede ser asintomática o manifestarse con síntomas de colestasis crónica, colangitis bacteriana superpuesta o incluso fallo hepático agudo. A veces se descubre en el estudio de la enfermedad intestinal crónica que se asocia al 80% de los casos, más frecuentemente de tipo colitis ulcerosa, que puede preceder o suceder a la colangitis.

No existe un tratamiento específico de la enfermedad, aunque el ácido ursodesoxicólico mejora las alteraciones bioquímicas de colestasis. El trasplante hepático es el último recurso terapéutico con buenas expectativas de supervivencia, aunque con probabilidad de recidiva de la enfermedad en el hígado trasplantado. En estadio avanzado hay riesgo de desarrollar colangiocarcinoma (5-20%).

#### Diagnóstico

El procedimiento esencial es la colangiografía retrógrada endoscópica, si bien la colangiorresonancia es el primer procedimiento diagnóstico que debe utilizarse, ya que es igualmente informativa y no invasiva. Analíticamente hay colestasis disociada, aunque la fosfatasa alcalina puede estar normal en algún caso. La bilirrubina es muy variable. Se han detectado diversos autoanticuerpos, siendo los más frecuentes y característicos los pANCA (26-94%) también referidos como pANNA. También puede haber positividad para anticuerpos ANA (8-77%) y ASMA (0-83%). Los pANCA pueden verse también en la colitis ulcerosa y en la hepatitis autoinmune. La biopsia hepática no es esencial para el diagnóstico.

#### Histopatología

Se caracteriza por una colangitis fibrosa obliterativa que se observa como una colangitis linfocitaria con fibrosis concéntrica lamelar periductal y atrofia ductal (fibrosis en "capas de cebolla"). La evolución es a ductopenia con cicatrices fibrosas en el lugar en el que estaba previamente el ducto. Además, la fibrosis e

inflamación crónica (generalmente leve) del intersticio portal evoluciona a fibrosis periportal con proliferación ductulillar irregular, fibrosis septal y cirrosis.

Los ductos biliares hiliares pueden mostrar ectasias y estenosis con inflamación mixta intensa, ulceración y extravasación de bilis con reacción xantogranulomatosa (infartos biliares) o con formación de cálculos. La inflamación intensa, a veces pseudotumoral en el hilio hepático puede afectar a la vena porta (flebitis) lo que puede influir junto con cambios similares en tractos porta pequeños a la distorsión frecuente de la arquitectura hepática con áreas de hiperplasia nodular regenerativa, de atrofia y de extinción. Los tractos porta pequeños frecuentemente muestran cambios colestásicos crónicos y secundarios a estenosis de ductos mayores como son fibrosis y edema portal, inflamación mixta leve y proliferación ductal y ductulillar irregular. En el parénquima puede haber signos de colestasis crónica y en estadios avanzados bilirrubinostasis. La afectación ductal y fibrosis son, al igual que en la CBP, irregulares en distribución y cronología en el hígado por lo que en fases iniciales la biopsia puede ser normal o mostrar cambios muy sutiles.

Para valorar la CEP se ha utilizado la estadificación de Ludwig de la CBP. En el estadio 1 los cambios se limitan al estadio porta con hepatitis portal leve, colangitis linfocitaria y a veces fibrosis periductal o colangitis fibroobliterativa, edema y proliferación ductulillar; en el estadio 2 la afectación es periportal con fibrosis periportal y a veces hepatitis de interfase; en el estadio 3 hay septos portoportales y ductopenia; el estadio 4 corresponde a cirrosis. En un estudio reciente de validación se compara este sistema con el descrito por Y. Nakanuma para la CBP y se propone la utilización del sistema de Y. Nakanuma en la estadificación al mostrar mayor valor predictivo sobre todo por incluir la valoración del depósito de cobre con orceina, que resulta un buen indicador de colestasis crónica y predictor de evolución.

### Diagnóstico diferencial

1. Colangitis esclerosante secundaria o adquirida: este término se emplea para las formas de colangitis esclerosante de etiología conocida, como las debidas a Fibrosis quística, isquemia (shock séptico, colangiopatía isquémica postrasplante, secundaria a vasculitis), infección biliar crónica en la inmunodeficiencia primaria o adquirida (criptosporidium, citomegalovirus, microsporidium), trauma, irradiación, cirugía previa, histiocitosis de células de Langherans, ruptura de quiste hidatídico, tumores, cavernomatosis portal (biliopatía portal) o fármacos (floxuridina). Las lesiones histológicas de colestasis crónica y fibroobliteración ductal y ductopenia pueden ser indistinguibles de la forma primaria. La exclusión de causas secundarias es un requisito para el diagnóstico de CEP.
2. Una minoría de pacientes con CEP (10%-15%) desarrollan una estenosis puntual dominante y empeora la ictericia planteándose diagnóstico diferencial con un colangiocarcinoma.
3. Colangitis esclerosante IgG4: es una colangitis crónica autoinmune que asocia niveles séricos elevados de IgG4 y un elevado número de células plasmáticas IgG4 positivas (inmunohistoquímicamente) en el infiltrado inflamatorio de las paredes ductales. Se produce también fibrosis y estenosis de la luz de los ductos. La enfermedad suele presentarse con clínica obstructiva biliar aguda y en contraste con la CEP asocia en más del 90% de los casos pancreatitis autoinmune tipo I. Puede asociar sialadenitis o mesenteritis esclerosante y no se asocia a colitis ulcerosa. La enfermedad responde a corticoides, a diferencia de la CEP, por lo que el diagnóstico correcto es importante. Histológicamente, en los tractos porta periféricos, puede ser indistinguible de la CEP reflejando obstrucción o estenosis en ductos mayores no presentes en la biopsia. Si se muestrean espacios porta más grandes se puede verse inflamación densa linfoplasmocitaria con gran componente de células plasmáticas y ocasionales eosinófilos. La flebitis obliterativa y la fibrosis estoriforme son características. Son raras la fibrosis portal avanzada y la ductopenia. El diagnóstico diferencial con la CEP puede ser muy difícil ya que en esta también se han visto niveles séricos aumentados de IgG4 hasta en un 20% de los casos y el número de células plasmáticas IgG4 no es específico (aunque más de 10 por campo de gran aumento muestra alta especificidad, la sensibilidad es baja) por lo que el diagnóstico final suele ser multidisciplinar. Rara vez se ha descrito también una forma colangitis esclerosante con lesión epitelial granulocítica que responde a tratamien-

to con corticoides, cuya relación con la colangitis autoinmune IgG4 y con la colangitis esclerosante primaria está por clarificar.

4. Algunos pacientes tienen características clínicas y serológicas que sugieren también hepatitis autoinmune además de su CEP (síndrome de superposición de CEP-hepatitis autoinmune, variante hepatítica de CEP). Los criterios diagnósticos no han sido estandarizados, pero incluyen características clínicas, bioquímicas (niveles elevados de IgG, anticuerpos antinucleares o antimúsculo liso) e histológicas (hepatitis moderada o intensa) de hepatitis autoinmune y características colangiográficas o histológicas de CEP. La hepatitis autoinmune no se asocia a colitis ulcerosa por lo que si hay enfermedad intestinal hay que descartar siempre superposición con CEP. El síndrome de superposición se ha descrito casi exclusivamente en niños, adolescentes y jóvenes. Con frecuencia se produce un cuadro de hepatitis autoinmune que evoluciona a CEP (se ha denominado colangitis esclerosante autoinmune). Por último, también se ha descrito muy rara vez una asociación entre CBP y CEP.

### Bibliografía

1. Ludwig J, Dickson ER, McDonald GS. Staging of chronic nonsuppurative destructive cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis). *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1978; 379:103.
2. Scheuer P. Primary biliary cirrhosis. *Proc R Soc Med* 1967; 60:1257.
3. Ludwig J. New concepts in biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 1987; 7:293.
4. Colina F, Pinedo F, Solis JA, et al. Nodular regenerative hyperplasia of the liver in early histological stages of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1992; 102:1319–1324.
5. Desmet VJ. Histopathology of chronic cholestasis and adult ductopenic syndrome. *Clinics in liver disease*. 1998 may;2 (2):249-263.
6. Chazouilleres O., Wendum D., Serfaty L. et al. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *Hepatology* 1998; 28:296-301.
7. Yabushita K, Yamamoto K, Ibuki N et al. Aberrant expression of cytokeratin 7 as a histological marker of progression in primary biliary cirrhosis. *Liver* 2001; 21: 50–55.
8. Hiramatsu K, Aoyama H, Zen Y, Aishima S et al. Proposal of a new staging and grading system of the liver for primary biliary cirrhosis. *Histopathology* 2006; 49: 466–78.
9. Abraham SC, Kamath PS, Eghtesad B et al. Liver transplantation in precirrhotic biliary tract disease: Portal hypertension is frequently associated with nodular regenerative hyperplasia and obliterative portal venopathy. *Am J Surg Pathol*. 2006 Nov;30(11):1454-61.
10. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009; 51:237-267.
11. Boberg KM, Chapman RW, Hirschfield GM, et al. Overlap syndromes: The International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) position statement on a controversial issue. *J Hepatol* 2011; 54:374.
12. Portmann B, Zen Y. Inflammatory disease of the bile ducts-cholangiopathies: liver biopsy challenge and clinicopathological correlation. *Histopathology* 2012; 60:236.

13. Kakuda Y, Harada K, Sawada-Kitamura S, Ikeda H, Sato Y, Sasaki M, et al. Evaluation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis in comparison with classical systems. *Hum Pathol* 2013; 44:1107-1117.
14. Abe K, Takahashi A, Nozawa Y. et al. The utility of IgG, IgM, and CD138 immunohistochemistry in the evaluation of autoimmune liver diseases. *Med Mol Morphol*. 2014 47(3):162-168.
15. Beuers U, Gershwin ME, Gish RG et al. Changing nomenclature for PBC: From 'cirrhosis' to 'cholangitis'. *Hepatology* 2015; 62:1620.
16. EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2015 Oct; 63(4): 971-1004.
17. Wendum D., PY Boëlle, Bedossa P, Zafrani ES., Charlotte F et al. Primary biliary cirrhosis: proposal for a new simple histological scoring system. *Liver Int* 2015;35:652-659.
18. Carbone M, Sharp SJ, Heneghan MA, Neuberger JM, Hirschfield GM, Burroughs AK, et al. Histological stage is relevant for risk-stratification in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2015;62:S805.
19. Trivedi PJ., Corpechot C., Pares A. et al. Risk stratification in autoimmune cholestatic liver diseases: Opportunities for clinicians and trialists. *Hepatology* 2016;63:644-659.
20. De Vries EM, de Krijger M, Färkkilä et al. Validation of the prognostic value of histologic scoring systems in primary sclerosing cholangitis: An international cohort study. *Hepatology*. 2016 Nov 23. doi: 10.1002/hep.28963. [Epub ahead of print].



# Protocolo de lectura histológica de biopsias hepáticas con sospecha de esteatohepatitis

Yolanda Rodríguez Gil<sup>1</sup>, Mercedes Pérez Carreras<sup>2</sup>, Guadalupe López-Alonso<sup>1</sup>, Javier Salamanca Santamaría<sup>1</sup>, Francisco Colina Ruiz-Delgado<sup>1</sup>

1 Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

2 Servicio de Medicina del aparato digestivo y hepatología del Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

## I. INTRODUCCIÓN

Este protocolo se engloba en el concepto de “secuencia de intervenciones de los diferentes profesionales en un proceso o procedimiento clínico que se diseña con el objetivo de minimizar el consumo de recursos y maximizar la calidad de los cuidados médicos”, pretende actualizar el protocolo anterior publicado en el año 2000 en la revista española de patología (1). Lo aplicamos al manejo y comunicación de la información obtenida de la lectura de la biopsia hepática en pacientes con sospecha de esteatohepatitis (EH) de etiología no alcohólica y alcohólica. Entre las ventajas de su uso habitual se incluyen la homogenización de los informes, la autodisciplina en la observación ordenada y completa de los cambios histológicos y la disminución de las variaciones intra e interobservador. Trata de ser un método adecuado para el estudio de series de pacientes y para la evaluación del efecto de los tratamientos en los ensayos clínicos que exigen biopsias periódicas a lo largo de años

Los objetivos que pretende alcanzar la lectura histológica de una biopsia hepática de un paciente con sospecha de esteatohepatitis (alteración de la función hepática mantenida con estudios previos de etiología negativos y frecuentemente ecografiaprevia con detección de esteatosis son (Fig 1):

1. Confirmar el diagnóstico clínico de sospecha de esteatosis y/o esteatohepatitis y cuantificar la esteatosis
2. Determinar la actividad inflamatoria (grado)
3. Determinar el estadio evolutivo (estadio de fibrosis)
4. Aportar datos microscópicos que sugieran la etiología (toxicidad, metabolismo, error metabólico... etc.) de la esteatohepatitis
5. Descartar otras patologías de hepatopatía crónica
6. Determinar el pronóstico
7. Seguir su evolución (historia natural): valorando las biopsias previas

## II. ANTECEDENTES

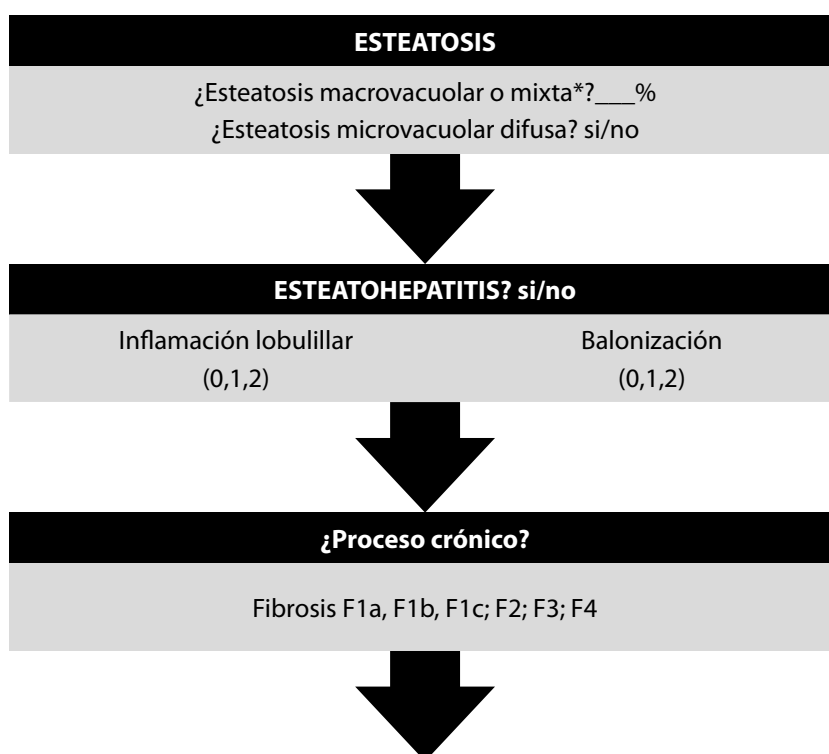
Los rasgos morfológicos utilizados para el diagnóstico y estadificación de las esteatohepatitis utilizados en este protocolo proceden en primer lugar de las dos descripciones iniciales: los rasgos morfológicos de la hepatitis alcohólica (HA) descritos por Gerber y Popper (2) en 1972 y el reconocimiento de formas histo-

lógicas de esteatohepatitis muy similares a ésta pero en pacientes sin hábito etílico (EHNA) por Ludwig et al. (3) en 1980.

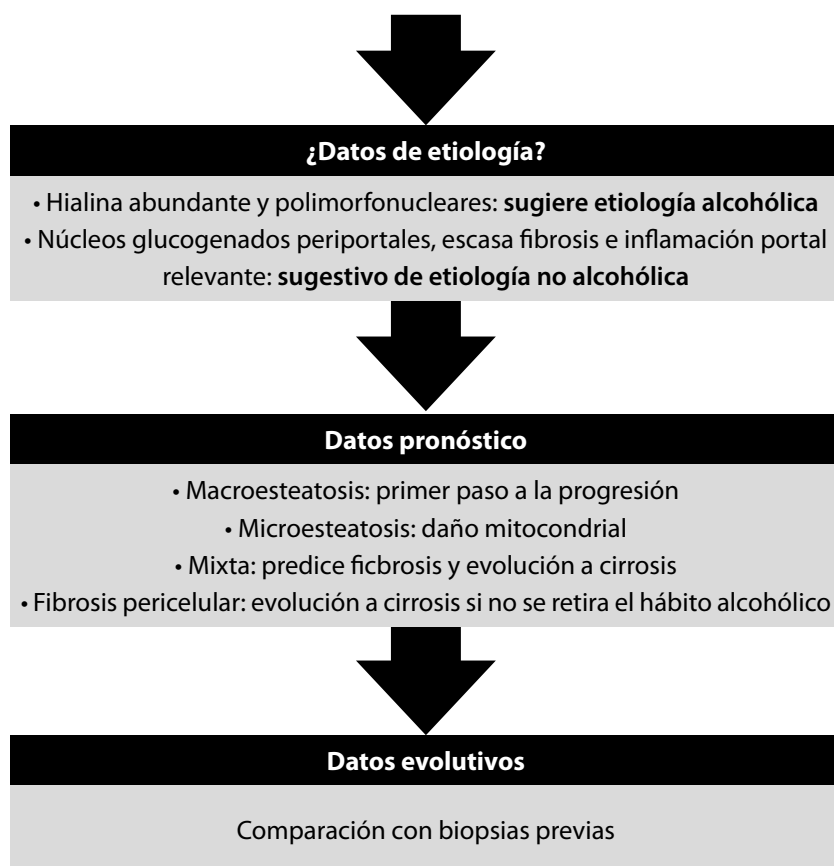
Hasta hace tres décadas lo habitual era encontrar esteatohepatitis asociada a etiología alcohólica en estadios avanzados y era excepcional encontrar EHNA (1). Desde los años 80 cuando Ludwig describe la primera serie de esteatohepatitis en mujeres obesas sin antecedentes de consumo de este tóxico, acuñando el término "esteatohepatitis no alcohólica" (EHNA), se han descrito múltiples series de EHNA. La mayoría en varones (5) relacionandola estrechamente con factores de riesgo metabólicos, como la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2, la dislipemia y el síndrome metabólico. Hoy en día se sabe que la EHNA, al igual que sucede con la hepatopatía alcohólica, forma parte de un espectro anatomoclínico de lesiones que incluyen la esteatosis simple, la esteatohepatitis, con o sin fibrosis, y la cirrosis. Dicha entidad es denominada enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) y actualmente es considerada la primera causa de hepatopatía en los países desarrollados, de cirrosis criptogenética y en un futuro lo será de trasplante hepático. La prevalencia de la esteatosis hepática en la población general es del 20-30% y de EHNA del 2-3% (4). Estos porcentajes aumentan hasta el 98% y 27%, respectivamente, en el subgrupo de pacientes con obesidad mórbida y es probable que llegue a constituir un problema de salud grave en un futuro cercano (12).

Este hallazgo coloca hoy a los patólogos en la necesidad de reconocer esta entidad y a la biopsia en la prueba más sensible y específica de esta enfermedad (1). La indicación de biopsia hepática sucede en pacientes asintomáticos que presentan unaelevación de ALT y/o ALT y/o GGT durante >6 meses inexplicada por los resultados de estudios no invasivos de etiología. La ecografía hepática previa al estudio histopatológico suele detectar esteatosis. El estudio biópsico confirma la esteatosis +/- con/sin esteatohepatitis +/- con/sin otras patologías asociadas y etiqueta al paciente como perteneciente al subgrupo de enfermedad hepática grasa, cuantificando las variables morfológicas que se asocian a riesgo de progresión y sugiriendo una posible etiología. También está indicada la biopsia en casos de seguimiento de esteatohepatitis cuando hay sospecha de enfermedad avanzada, valoración de indicación de trasplante, índices de estadificación no invasiva discordantes (elastograma) y en la evaluación de terapéuticas.

Figura 1. Objetivos pretendidos al interpretar una biopsia hepática indicada por sospecha de esteatohepatitis. Ver el algoritmo diagnóstico de la figura 2, como complemento para conseguir estos objetivos.







### III. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS RECOMENDADAS PARA INCLUIR EN EL PROTOCOLO (FIGURA 1)

#### Criterios mínimos

El paciente biopsiado por una disfunción hepática crónica (elevación de transaminasas séricas por más de seis meses) con datos etiológicos negativos que muestra histológicamente esteatosis suele incluirse en el grupo clínico de *“esteatohepatitis”*, pero con más precisión debería utilizarse el concepto más amplio de *“enfermedad de hígado graso”*, que debe ser valorada en cuanto a grado de esteatosis y presencia o no de inflamación (esteatohepatitis). Uno de los métodos que ha demostrado buena correlación kappa y resulta relativamente sencillo es el algoritmo diseñado por Bedossa (14) (figura 2) para determinar el pronóstico (8). La presencia de esteatosis aislada no siempre constituye una enfermedad banal ya que un grupo de esteatosis que no tienen criterios suficientes para el diagnóstico de esteatohepatitis también evolucionan a fibrosis, aunque su riesgo es menor y no se ha visto un incremento de la mortalidad por la enfermedad hepática en estos pacientes (9)

Seguindo las últimas recomendaciones de Bedossa (11) será necesario disponer de una biopsia suficientemente representativa, para lo cual se recomienda un diámetro de al menos 1,2 mm, con aguja 16G (1,6mm). Debe demostrarse histológicamente la inflamación y la degeneración balonizante, aunque sean en grado leve, para considerar confirmado el diagnóstico de esteatohepatitis. Estos dos datos constituyen un riesgo de evolución a fibrosis (aproximadamente el 15-20%), significativamente mayor que el de la esteatosis con sólo mínima inflamación (13,32). Aunque estudios previos han tomado diferentes grados de inflamación con o sin degeneración balonizante o que incluso utilizaban la fibrosis intercelular como requisito diagnóstico (5) parece que el algoritmo propuesto por Bedossa y cols. (Fatty Liver Inhibition of Progression o FLIP) según

el índice de actividad SAF (Steatosis, Activity and Fibrosis) (14) tiene mejores índices de reproductibilidad interobservador y representa bien al subgrupo de pacientes con más riesgo de evolucionar a fibrosis (11). Se detalla en la figura 2.

### Evaluaciones semicuantitativas

De modo similar a lo hecho en las hepatitis crónicas, para las esteatohepatitis se han desarrollado múltiples índices de evaluación tanto del grado de actividad inflamatoria como del estadio en función de la fibrosis y de la alteración arquitectural. Conviene considerar los históricamente más importantes. En el año 1999 el grupo de Brunt propuso el primer sistema de cuantificar la actividad valorando la inflamación lobulillar y portal y la esteatosis y de cuantificar aparte la fibrosis en 4 estadios de modo análogo a como se venía haciendo en las hepatitis virales (13). Esta clasificación fue modificada tras el estudio multicéntrico realizado por la propia Elizabeth Brunt y 8 patólogos expertos pertenecientes al Pathology Subcommittee of NASH del Research Network Clinical Center of National Institute of Health (EEUU) en el año 2005 (16), publicando como resultado el índice numérico NAS CRN (16). Este estudio tiene como inconveniente que es capaz de discernir la presencia de esteatohepatitis en las puntuaciones 5-8 o descartarla en las de 1-2, pero quedan las situaciones intermedias con 3 y 4 puntos donde los casos resultan no clasificados (borderline). También se ha evaluado la reproductibilidad inter e intraobservador de estos índices (16, 17) siendo adecuada para las variables seleccionadas pero siendo baja para la inflamación portal que finalmente se dejó fuera del índice.

En la presente propuesta de valoración de EH (figura 3), hecha tras considerar el objetivo fundamental de dar la máxima información relevante con el menor coste de tiempo y alcanzando la máxima reproductibilidad, se ha realizado una revisión de la bibliografía, un consenso con diferentes patólogos con experiencia en patología hepática y una consulta con el Servicio de Gastroenterología y Hepatología que dispone de una consulta monográfica específica para EHNA, esto nos ha permitido tener una visión de la aplicabilidad clínica. Con ello se ha elaborado una propuesta de valoración semicuantitativa del grado de actividad y del estadio de esteatohepatitis, utilizando el "índice SAF" publicado por Bedossa en 2012 (18). Este índice valora individualmente la *esteatosis*, la *actividad* (inflamación + balonización) y la *fibrosis*, lo que se complementa con un algoritmo para definir esteatohepatitis cuando las tres alteraciones, esteatosis, balonización e inflamación lobulillar al menos en grado 1. En este protocolo se ha añadido el incluir en la descripción microscópica algunos parámetros no considerados en solo el índice SAF (el modo de valorarlos se detalla más abajo) que son:

- la inflamación portal
- el porcentaje de hepatocitos balonizados (tal como se describe en el índice NAS –CRN)(16)
- el número aproximado de focos inflamatorios en un campo observado con el objetivo 20x cuando el grado es 2.
- Los signos sugestivos de etiología o de interés pronóstico en sospecha de etiología alcohólica.

#### 1. Valoración de la esteatosis (S)

La esteatosis es el resultado de la acumulación de lípidos (fundamentalmente triglicéridos en el hígado) en forma de vesículas en el citoplasma de los hepatocitos. En la EHNA la esteatosis suele ser macrovesicular, aunque generalmente no se presenta en forma macrovesicular "pura" sino en una mezcla de vacuolas de variable diámetro. La esteatosis microvesicular pura es poco frecuente aunque puede ocurrir en una distribución parcheada en aproximadamente el 10% de los casos de EHNA (19). Si ocurre de forma difusa debe descartarse un trastorno de la oxidación mitocondrial (10, 26, 31) y por tanto debe incluirse este hallazgo en el informe.

El sistema de cuantificación elegido es una escala semicuantitativa en 4 grados (de 0 a 3). Solo ha de tomarse en cuenta el componente macro y mediovesicular de la esteatosis y debe valorarse el porcentaje de hepatocitos afectados por la presencia de vacuolas (18). La intensidad de la esteatosis se debe expresar en porcentajes de hepatocitos afectos o en gradaciones de mínima o inexistente S0 (<5%), leve S1 (5-33%), moderada S2(34-65 %), intensa S3 (>65 %). La localización suele ser pericentral en la EHNA de los adultos y sin embargo periportal en la EHNA de los niños (20). Cuando la esteatosis es muy abundante el

aspecto es panlobulillar. A lo largo de la evolución a cirrosis la esteatosis puede hacerse irregular e incluso desaparecer (21).

## 2. Valoración de la actividad necroinflamatoria lobulillar (A=I+B)

El infiltrado inflamatorio tisular y la degeneración-necrosis hepatocitarias son los cambios que determinan la actividad y se correlacionan con la elevación de tasas séricas de trasaminasas aunque no de forma absolutamente directa (15).

Las lesiones necroinflamatorias a evaluar son las observadas en el lobulillo (inflamación lobulillar -I- y degeneración balonzante -B-) y en la interfase periportal (actividad inflamación portal y periportal -P-).

Las primeras, inflamación lobulillar y degeneración balonzante, se incluyen en el índice propuesto para evaluar la actividad por presentar una mayor concordancia interobservador, pero la inflamación portal también ha de reportarse en el informe, al menos en la descripción microscópica ya que se ha visto relacionada con el pronóstico (11,22).

- a) La necroinflamación lobulillar en su grado mínimo supone inflamación centrolobulillar asociada al cambio claro de las células hepáticas con sólo presencia de escasos neutrófilos dispersos y aislados por los sinusoides o linfocitos en situación interhepatocitaria, o algún foco de células inflamatorias de tipo mixto no llegando a reunirse más de dos focos inflamatorios en un campo observado con el objetivo 20x (I1). En el grado intenso (I2) la actividad lobulillar se manifiesta por múltiples grupos de células inflamatorias de tipo mixto, que se cuantifican como más de dos en un campo (objetivo 20x). Como el rango inflamatorio es muy variable los infiltrados inflamatorios pueden ser abundantes se propone describir el número aproximado de focos inflamatorios en los casos con grado 2 de actividad lobulillar, especificando si existe un abundante componente de neutrófilos ya que éstos se asocian más frecuentemente a la etiología alcohólica. Los *lipogranulomas* son si bien no se contabilizan para el grado de inflamación en el índice SAF (18)
- b) La degeneración balonzante es el componente de la actividad lobulillar que se refiere al cambio claro de los citoplasmas hepatocitarios. Éste va desde un aspecto hiperglicogenado, similar al de las gluco-genosis, hasta la obvia degeneración balonzante hepatocitaria con un citoplasma de aspecto globoide que alberga grumos citoplasmáticos (mitocondrias gigantes, hialina de Mallory). Debe recordarse que los hepatocitos normales muestran un citoplasma de aspecto sólido y eosinófilo de bordes angulados, rico en mitocondrias. El primer grado de balonzación (B1), corresponde a hepatocitos que muestran bordes redondeados aunque manteniendo su tamaño y sin superar al doble del hepatocito normal. Cuando el tamaño del hepatocito globoide es más de dos veces el de un hepatocito normal se considera el segundo grado de balonzación (B2) (18). Estas características del citoplasma pueden verse afectando a pequeños grupos de hepatocitos, lo que confiere un aspecto "vegetaloide" a la zona afecta, (la zona 3), pero también puede ser panlobulillar y el patólogo deberá incluir en su descripción este dato de extensión de la lesión en forma de porcentaje aproximado de hepatocitos balonzados. Aunque el método del índice SAF no lo incluye, los índices anteriores descritos por Brunt y por el consorcio NAS CRN lo consideraban importante su valor pronóstico (16). La inmunohistoquímica puede ayudar a cuantificar el porcentaje de hepatocitos afectados en caso de duda ya que su tinción es más débil para CK8 y Ck18 (21).

## 3. Inflamación portal (para incluir en la descripción microscópica)

En el intersticio del tracto portal y en la interfase periportal puede observarse infiltrado inflamatorio, preferentemente linfocitario pero también con neutrófilos. Esta afectación inflamatoria del tracto portal, más parecida a la de las hepatitis crónicas periportales asociadas a infección por virus hepatotropos, cuando se presenta en la esteatohepatitis, parece ser más característica de la EHNA que de la HA. Como en las hepatitis crónicas de otro origen, en la Esteatohepatitis la actividad periportal puede evaluarse en mínima o inexistente (P0), limitada al espacio porta (P1) leve, Afectando focalmente a la zona periportal (P2), con lesión portal y periportal moderada o intensa (P3) (13) para completar el grado de actividad del índice SAF , proponemos siguiendo el método descrito por Brunt , incluir el grado de inflamación portal y periportal en la descripción microscópica (13).

Es importante resaltar que la actividad inflamatoria tanto bioquímica (valores de transaminasas séricas) como histológica (índices de necroinflamación) presenta menores niveles de intensidad y un espectro de variabilidad menos amplio que en las hepatitis crónicas víricas. Esta consideración es oportuna para el diagnóstico diferencial entre EH y esas otras hepatitis crónicas, pero también es oportuna para la evaluación del grado (I, B, P). EL patólogo no debe utilizar la misma medida en unas y otras. Metafóricamente, deberíamos utilizar el gramo como unidad de medida adecuada para el espectro de intensidad de la necroinflamación en la EH, mientras que usaríamos el kilogramo para evaluarla en las hepatitis por virus hepatotropos (1).

#### 4. Valoración de la fibrosis (estadio) (F)

En su presencia mínima se presenta como una sutil colagenización sinusoidal o una fibrosis delicada pericelular en la zona central del lobulillo, en torno a la vena eferente (estadio F1a). Cuando esta fibrosis sinusoidal y pericelular es algo más densa y no tenue pero se limita a la zona central del lobulillo se considera un grado mayor (estadio F1b). Los raros casos en que la fibrosis comienza por el espacio portal que presenta una pérdida de la convexidad de su perímetro y el aspecto de sus bordes es "cóncavo", con prolongaciones de su mesénquima a modo de "cabeza de medusa" (observable con técnica de tricrómico de Masson) pero aún sin llegar a formar septos, se corresponde con estadio F1c.

Cuando la fibrosis lobulillar es intensa y comienza a esclerosar áreas gruesas (esclerosis pericentral) se extiende por la zona 3 del acino de Rappaport e inicia una septación incompleta hacia las áreas perivenulares vecinas y hacia los espacios porta corresponde al estadio F2, que puede progresar hasta formar septos completos (estadio F3). El estadio F4 ocurre cuando además se pierde la arquitectura acinar al regenerar los hepatocitos constituyendo nódulos, la remodelación está establecida. Es el estadio de cirrosis.

A partir del estadio 3, puede existir dificultad diagnóstica ya que los septos centro-centrales o centro-portales incluyen a los espacios porta. En este estadio F3 la EHNA incluye frecuentemente inflamación portal con lo que el cuadro se puede parecer a una hepatitis con "necrosis en sacabocados" como es típico de la hepatitis de etiología viral, deben consultarse las biopsias previas y el cuadro evolutivo que puede añadir información morfológica de etiología. (2,6). El estadio cirrótico con septos completos y distorsión de la arquitectura formando nódulos regenerativos corresponde al estadio F4.

#### Presentaciones infrecuentes

Es oportuno señalar que tanto en la EH de causa alcohólica (2) como en EHNA (6) existen raras formas agudas o subagudas cuya morfología es la de **necrosis hepática submasiva** ( los hepatocitos han desaparecido de varios lobulillos contiguos o de extensas partes de un lobulillo con sólo remanentes grupos de células hepáticas balonizadas con hialina o esteatosis). Su excepcionalidad hace que no sean el objetivo de este protocolo y se informarán describiendo los hallazgos específicos en cada una de ellas . (1)

#### Etiologías de la esteatohepatitis y sus datos microscópicos orientativos .

Los criterios morfológicos del diagnóstico de la esteatohepatitis son los ya comentados (algún grado de esteatosis, degeneración hidrópica hepatocitaria, infiltrados inflamatorios) y el estadio depende de estos rasgos y de las características de su fibrosis progresiva, pero no son los únicos observables. Además de ellos, el complejo lesional característico se compone de otros datos valorables para completar su semiología y ayudar a su reconocimiento microscópico (23-25).

Entre las alteraciones de las células hepáticas además del *cambio claro citoplasmático* están: 1) los *núcleos glucogenados* presentes en casi todas las esteatohepatitis aunque son especialmente relevantes y de distribución periportal en la EHNA, mientras que son ocasionales y sin preferencia por una determinada localización lobulillar en la esteatohepatitis etiología alcohólica; 2) las *mitocondrias gigantes* y/o la hiperplasia mitocondrial pancitoplasmática (oncocitaria) son más típica de la etiología alcohólica, 3) la *hialina* mal definida (exceso de material granular confluyente anfófilo perinuclear) frecuente en las reacciones adversas a fármacos o la hialina bien definida (con características "clásicas" en grumos o "letras chinas" en un fondo de citoplasma claro) son más típicas de la etiología alcohólica pero también ocasionalmente se

encuentran en la EHNA muy activa, 4) la transformación de hepatocitos en *cuerpos acidófilos* de núcleo picnótico que suelen ser escasos (2 ó 3 por cilindro en el grado 2 de actividad) pero evidentes; 5) la *side-rosis* fue considerada como parte del espectro lesional de la esteatohepatitis pero hoy las series de casos de EHNA en los que se excluyó hemocromatosis genética parecen ofrecer menor incidencia del depósito férrico (1,13); y 6) también es frecuente observar *macrófagos PAS-positivos* en el intersticio portal o diseminados por el lobulillo (1).

Entre las características orientativas hacia la etiología alcohólica está la intensidad de la fibrosis. Los estadios 3 y 4 son más frecuentes entre las biopsias de pacientes alcohólicos que entre las de pacientes con EHNA quienes por el contrario suelen mostrar estadios iniciales cuando son biopsiados. La severidad de la necroinflamación lobulillar con abundantes neutrófilos y la presencia de clara hialina además de la fibrosis relevante son los marcadores microscópicos más sugestivos de etiología etílica (31), mientras que los núcleos hiperglicogenados de localización periportal y la mayor inflamación portal parecen más característicos de EHNA (24). El análisis de la biopsia con esteatohepatitis debe asociar un cuidadoso estudio clínico que permita descartar etiología alcohólica, pero en el caso de que la sospecha histológica sea alta y/o se confirme con datos clínicos la valoración de actividad y estadio debe incluir los datos que se han mostrado más relevantes para el pronóstico de EH alcohólica recientemente publicados por el grupo español del Hospital Clínic de Barcelona y (validados en un estudio multicéntrico incluyendo 5 hospitales americanos y europeos). Estos datos incluyen el estadio de fibrosis (presencia de puentes o septos), bilirrubinostasis (canalicular o ductulillar y hepatocelular), como signos de mal pronóstico que empeoran la supervivencia a 90 días, y la presencia de neutrófilos y megamitocondrias como signos de buen pronóstico si se trata de esteatohepatitis de causa alcohólica (32,33). Este índice para esteatohepatitis alcohólica parece simple y ha obtenido índices kappa altos pero aún debe validarse por otros grupos. Por el momento recomendamos considerar las HA como un grupo aparte de las EHNA e incluir estos parámetros en su valoración.

El cuadro histológico de la esteatohepatitis puede ser producido como consecuencia de una reacción adversa a fármacos entre los que se incluyen frecuentemente los corticoides, metotrexato, amiodarona, los bloqueantes del calcio (nifedipino), espironolactona, y antiinflamatorios como sulfasalazina y recientemente las pacientes con cáncer de mama tratadas con tamoxifeno, esta lista se va ampliando progresivamente y debe hacerse una adecuada consulta bibliográfica en relación a los fármacos que tome el paciente concreto (7)(34).

La EHNA parece ser una enfermedad multifactorial, epidemiológicamente entre los factores de riesgo de los pacientes con EHNA suelen estar la edad (5ª o 6ª década), el sexo femenino (65-80 %) y algunas anomalías metabólicas. Frecuentemente se considera parte del conjunto de anomalías llamado "síndrome metabólico" que incluye 3 o más de los siguientes criterios: obesidad visceral (aumento del perímetro abdominal más de 80 cm mujeres y más de 94 cm en varones con los valores adaptados a Europa) y/o la diabetes mellitus no-insulín dependiente (glucemia basal de más de 110-126 mg/dl) y/o la hiperlipemia (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia o ambas), hipertensión. Una reducción de peso rápido también debe considerarse un factor de riesgo. No obstante recientemente se encuentran más pacientes fuera de estos típicos factores de riesgo (5,7,27).

Las situaciones postquirúrgicas anormales (gastroplastia o "bypass" yeyunoileal para obesidad mórbida, extensa resección intestinal, derivaciones biliopancreáticas), la nutrición parenteral total, la caquexia prolongada, la desnutrición y la pérdida rápida de peso pueden asociarse a cuadros de esteatohepatitis, pero el conocimiento previo a la biopsia hepática del contexto clínico en el que se ha obtenido hace fácil interpretar esta histología. Deben considerarse en el diagnóstico diferencial los lipogranulomas "en anillo" asociados a esteatosis que se observan en fiebre Q o infección activa por citomegalovirus (28).

La hepatitis C crónica incluye entre sus características la esteatosis, que generalmente se describe como escasa y preferentemente microvacuolar y en algunos estudios, incluso se describe hialina asociada (29). Existen las posibilidades de que estos cambios sean debidos al propio virus o que expresen una plurietiología en la hepatopatía atribuida al virus C dada la alta prevalencia de consumo de alcohol. La presencia de inflamación linfoplasmocitaria muy abundante en un caso de supuesta EHNA obliga descartar causas

asociadas, así como la presencia de abundantes neutrófilos e hialina bien definida obliga a considerar el alcohol como causa sobreañadida, aunque se han observado estos cambios también en abstemios con VHC (7 %) (30). Es posible que la intensidad de este consumo diario por gran parte de la población no alcance los niveles considerados tóxicos (20 gr /día en mujeres o 140 gr/semana y 30 gr /día en hombres o 210 gr/semana) pero es probable que el hígado con otra lesión como la producida por el VHC sea más sensible a la toxicidad del alcohol o de los fármacos hepatotóxicos. Si en el contexto de una hepatitis crónica por VHC la biopsia muestra también los cambios lobulillares de la EH es recomendable hacerlo constar en el diagnóstico histopatológico. Tal dato morfológico debe inducir al gastroenterólogo a cuestionar al paciente por sus posibles hábitos tóxicos y de uso de fármacos(11).

Aunque la EHNA se puede ver en niños en el mismo contexto clínico que en los adultos (diabetes, obesidad, etc.), algunas de las hepatopatías por errores metabólicos genéticos como glucogenosis, abetalipoproteinemia, galactosemia, etc. (7) pueden presentar cambios muy similares a los de la EHNA, por lo que en la edad infantil esta histología debe poner en marcha los estudios bioquímicos y metabólicos necesarios. Especialmente hay que señalar que una EHNA histológica puede ser la imagen microscópica de una enfermedad de Wilson así como formar parte del patrón microscópico de una hemocromatosis o de una porfiria hepatocutánea tarda. Las técnicas histoquímicas para demostración cualitativa de exceso de cobre (rodanina) o de su apoproteína (orceína de Shikata) en la sospecha de enfermedad de Wilson o las de demostración de hierro (azul de Prusia o Perls) en la hemocromatosis y en la porfiria hepatocutánea pueden ser de ayuda orientando el diagnóstico etiológico de la esteatohepatitis histológica. Debe recordarse que el peso de estos metales en el tejido sobrante, incluido en parafina, puede ser más concluyente al respecto, así como los estudios bioquímicos y genéticos en el paciente.

#### IV. CORRELACIÓN ANATOMOCLÍNICA Y COMENTARIOS

El adecuado informe de biopsia acaba con una sugerencia etiológica que depende de los datos histopatológicos y la adecuada correlación clinicopatológica. En un comentario final pueden recomendarse las pertinentes exploraciones analíticas según las conclusiones finales. Si existen biopsias previas deben compararse e incluirse un comentario con los datos cronológicos de evolución.

Por el momento no existe un tratamiento óptimo, las medidas más eficaces son el ejercicio físico regular, el control de la diabetes, el sobrepeso las hiperlipemias y por supuesto evitar los hábitos tóxicos. Desconocemos la velocidad de progresión de los distintos tipos etiopatogénicos de la esteatohepatitis y nos encontramos inmersos en la búsqueda de nuevos fármacos que mediante los pertinentes ensayos clínicos es posible que puedan controlar e incluso revertir parte de las lesiones de esta enfermedad, para ello debemos colaborar en precisar el grado de actividad de la EH y el estadio de fibrosis en cada momento de la enfermedad que permita el cuantificar el efecto y utilidad de los nuevos fármacos (9).

#### Bibliografía

1. Colina F. Protocolo de lectura de biopsias hepáticas con esteatohepatitis. Rev Esp Patol 2000, 33 (4): 347-356.
2. Gerber MA, Popper H. *Relation between central canals and portal tracts in alcoholic hepatitis. A contribution to pathogenesis of cirrhosis in alcoholics.* Hum Pathol 1972; 3:199-207.
3. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. *Nonalcoholic steatohepatitis. Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease.* Mayo Clin Proc 1980; 55:434-438.
4. James OFW, Day CP. *Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance.* J Hepatol 1998; 29:495-501.



5. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. *Nonalcoholic steatohepatitis*. Ann Intern Med 1997; 126: 137-145.
6. Ludwig J, McGill DB, Lindor KD. *Review: Nonalcoholic steatohepatitis*. J Gastroenterol Hepatol 1997; 12:398-403.
7. Diehl AM. *Nonalcoholic steatohepatitis*. Sem Liver Dis 1999; 19:221-229.
8. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. Clin Gastroenterol Hepatol. 2015 Apr;13(4):643-54.
9. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. J Hepatol. 2015 May;62(5):1148-55.
10. Bedossa P. Histological assessment of NAFLD. Dig Dis Sci 2016;61:1348-1355.
11. Bedossa P. pathology of non-alcoholic fatty liver disease. Liver international 2017;37 (suppl 1):85-89.
12. Lomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. Nat Rev gastroenterol hepatol ;2013: 10: 686-690.
13. Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of non-alcoholic fatty liver disease. World J gastroenteol 2010; Nov 14:16 (42): 5286-5296.
14. Bedossa P and the FLIP Pathology Consortium. Utility and appropriateness of the Fatty Liver Inhibition of Progression (FLIP) algorithm and Steatosis , Activity and Fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of non-alcoholic fatty Liver disease. Hepatology 2014;60:565-575.
15. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. *Nonalcoholic steatohepatitis: A proposal for grading and staging the histological lesions*. Am J Gastroenterol 1999; 94:2467-2474.
16. Kleiner DE, Brunt EM et al. design and validation of histological scoring system for non-alcoholic fatty liver disease. Hepatology 2005; 41:1313-1321.
17. Takahashi Y. histopathology of non-alcoholic fatty liver disease. World J gastroenterol 2010;Nov 14;16 (42): 5286-5296.
18. Bedossa P, Poitou C et al. histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. Hepatology 2012; 56: 1751-1759.
19. Tandra S, Yeh MM, Brunt EM, Vuppalanchi R, Cummings OW, Unalp-Arida A, Wilson LA, Chalasani N; NASH Clinical Research Network (NASH CRN). Presence and significance of microvesicular steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2011 Sep;55(3):654-9.
20. Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, Deutsch R, Nievergelt C, Schork NJ, Lavine JE. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology.2005 Sep;42(3):641-9.
21. Bedossa P, Patel K. Biopsy and Noninvasive Methods to Assess Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Gastroenterology. 2016 Jun;150(8):1811-1822.

22. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA et al. NASH Clinical research network. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (ANFLD) a histologic marker of advanced NAFLD clinicopathologic correlations from the non-alcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology* 2009;46:809-820.
23. Itoh S, Yougel T, Kawagoe K. *Comparison between nonalcoholic steatohepatitis and alcoholic hepatitis*. *Am J Gastroenterol* 1987; 82:650-654.
24. Vargas Castrillón J, Colina Ruizdelgado F, Moreno Sanchez D, Solís Herruzo JA. *Esteatohepatitis no alcohólica. Estudio histopatológico de 40 casos*. *Med Clin* 1988; 90:563-568.
25. Pinto HC, Baptista A, Camilo ME, Valente A, Saragoca A, de Moura MC. *Nonalcoholic steatohepatitis. Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients*. *Dig Dis Sci* 1996; 41:172-179.
26. Diehl AM, Goodman Z, Ishak KG. *Alcohollike liver disease in nonalcoholics. A clinical and histologic comparison with alcohol-induced liver injury*. *Gastroenterology* 1988; 95:1056-1062.
27. Bellentani S. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2017 Jan;37 Suppl 1:81-84.
28. Zhu H, Bodenheimer HC Jr, Clain DJ, Min AD, Theise ND. Hepatic lipogranulomas in patients with chronic liver disease: association with hepatitis C and fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2010 Oct 28;16(40):5065-9.
29. Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis GL, Perrillo RP, Lindsay K, Bodenheimer HC, et al. *Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: A multicenter comparative study with chronic hepatitis C*. *Gastroenterology* 1993; 104:595-603.
30. Hu B, French SW. Mallory body and empty cell in hepatitis C. *Hepatology Research* 1997; 8:13-20.
31. Fromenty B, Pessayre D. Impaired mitochondrial function in microvesicular steatosis: effects of drugs, alcohol, hormones and cytokines. *J Hepatol* 1997 (Suppl2); 26:43-54.
32. Teli MR, Day CP, Burt AD, Bennett M, James OFW. Determinants of progression to cirrhosis or fibrosis in pure alcoholic fatty liver. *Lancet* 1995; 346:987-989.
33. Altamirano J, Miquel R, Katoonizadeh A, Abraldes JG, Duarte-Rojo A, Louvet A, Augustin S, Mookerjee RP, Ichelena J, Smyrk TC, Buob D, Leteurtre E, Rincón D, Ruiz P, García-Pagán JC, Guerrero-Marquez C, Jones PD, Barritt AS 4th, rroyo V, Bruguera M, Bañares R, Ginès P, Caballería J, Roskams T, Nevens F, Jalan R, Mathurin P, Shah VH, Bataller R. A histologic scoring system for prognosis of patients with alcoholic hepatitis. *Gastroenterology.* 2014 May;146(5):1231-9.
34. Yan M, Wang J, Xuan Q, Dong T, He J, Zhang Q. The Relationship Between Tamoxifen-associated Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Prognosis of Patients With Early-stage Breast Cancer. *Clin Breast Cancer.* 2016 Dec 24. pii:S1526-8209(16)30569-9.



## INFORME TIPO

A modo de ejemplo este sería el diagnóstico con grado de actividad y estadio de un caso de esteatohepatitis:

### EJEMPLO 1:

**Cilindro hepático procedente de biopsia hepática percutánea con esteatosis de aproximadamente el 40% asociada a esteatohepatitis S2A2(I1+B1)F1b No se han observado datos sugestivos de etiología. (Clasificación Bedossa 2014)**

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA incluirá:

- Balonización en aproximadamente el 15-20% de hepatocitos
- Inflamación portal leve P1
- No se han observado núcleos glucogenados

### EJEMPLO 2:

**Cilindro hepático procedente de biopsia hepática percutánea con esteatosis de aproximadamente el 45% asociada a esteatohepatitis S2A4(I2+B2)F2 . Se observa abundante hialina e inflamación que recomiendan descartar etiología alcohólica. (Clasificación Bedossa 2014)**

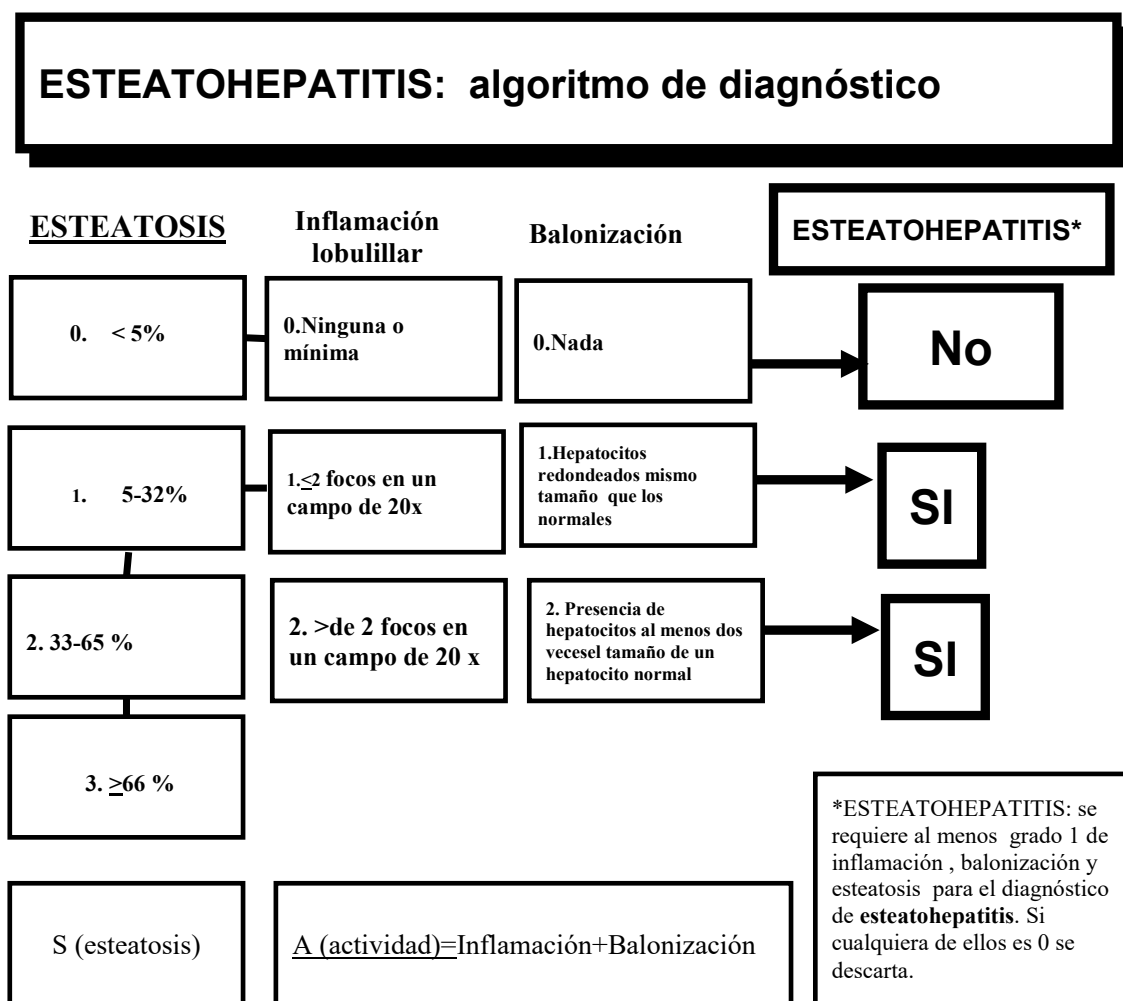
DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA incluirá:

- Balonización en aproximadamente el 30-40% de hepatocitos
- Inflamación portal leve P1
- Se han observado núcleos glucogenados dispersos
- Hialina de Mallory y megamitocondrias
- Presencia de neutrófilos en la inflamación lobulillar

# ESTEATOHEPATITIS: índice de actividad y estadio

ACTIVIDAD			
ESTEATOSIS	Inflamacion lobulillar	Balonización	FIBROSIS
0. <5%	0. Ninguna o mínima	0. Nada	0. Ninguna
1. 5-32%	1. ≤2 focos en un campo de 20x	1. Hepatocitos redondeados mismo tamaño que los normales	1a. Leve zona 3 perisinusoidal 1b. Moderada. Zona 3 densa 1c. Solo portal
2. 33-65 %	2. >de 2 focos en un campo de 20 x	2. Presencia de hepatocitos al menos dos vecesel tamaño de un hepatocito normal	2. Sinusoidal y portal
3. ≥66 %			3. Septos completos (puentes)
			4. Cirrosis (probable o evidente)
<u>S (esteatosis)</u>	<u>A</u> <u>(actividad)=Inflamación+Balonización</u>		<u>F (fibrosis)</u>

**Figura 2.** Esquema del índice numérico "SAF" (STEATOSIS; ACTIVITY, FIBROSIS) para valorar las variables que determinan la actividad y estadio de las Esteatohepatitis no alcohólicas. Bedossa 2012 (18)



**Figura 3.** Algoritmo publicado por consenso según el "FLIP Pathology Consortium" basado en el índice numérico SAF que permite de forma directa separar los casos con esteatohepatitis de los que no alcanzan criterios y se engloban en "enfermedad hepática grasa con inflamación o fibrosis, que se expresarán de forma descriptiva". Esquema del índice numérico para valorar las variables que determinan la actividad y estadio de las Esteatohepatitis no alcohólicas. Bedossa et al (14)



# Estudio macroscópico y microscópico de las piezas de hepatectomía

Carlos Zac Romero, Judith Pérez Rojas, Francisco Vera Sempere

*Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia.*

## I. GENERALIDADES

Para el patólogo, la adhesión a un protocolo no garantiza el éxito del diagnóstico pero es una herramienta interpuesta entre sus conocimientos de morfología y la emisión de información clínicamente útil<sup>1</sup>. Aporta los métodos para obtener esa información con el material disponible. Basado en las circunstancias particulares de un paciente o de un espécimen, el patólogo podría desviarse del protocolo hospitalario pero se aconseja hacer constar en la documentación del paciente la razón del no seguimiento del mismo.

En las peticiones de estudio histológico que acompañan a los especímenes remitidos al laboratorio de Anatomía Patológica debe constar una información necesaria para la correcta correlación anatomoclínica que concluirá la labor de obtener información morfológica fiable<sup>2</sup>:

- a) Datos clínicos relevantes (cirrosis, no cirrosis, desconocido respecto de cirrosis).
- b) Diagnóstico clínico y de imagen.
- c) Localización intrahepática y tamaño de la lesión ocupante de espacio (LOE).
- d) Pruebas de función hepática, tasa de alfa-fetoproteína

El estudio macroscópico de las piezas hepáticas generalmente se realiza en dos tiempos.

En primer lugar cabe señalar que para comenzar con el estudio macroscópico de una pieza hepática es importante establecer de forma cierta cuál es el tipo de procedimiento quirúrgico realizado y el motivo por el cual se realiza esta intervención. Siempre debemos conocer la historia clínico-quirúrgica del paciente y consultar los estudios de imágenes que nos facilitarán la tarea a la hora de orientar la pieza y encontrar la lesión en caso de que se corresponda con neoplasia.

Los procedimientos quirúrgicos más habituales son los siguientes: hepatectomía total, segmentectomía o trisegmentectomía.

1. La pieza quirúrgica recibida debe orientarse anatómicamente y una vez realizado esto debemos pesar la misma y medirla de manera longitudinal, transversal y sagital.
2. En la mayoría de los laboratorios de Patología es posible realizar fotos macroscópicas de las piezas quirúrgicas a analizar y ello es de gran interés en el caso que nos ocupa, de manera que quede constancia documental del aspecto macroscópico y de la forma de procesamiento, pudiendo estudiar posteriormente el caso y establecer una adecuada correlación diagnóstica en las sesiones clínico-patológicas.
3. Se debe inspeccionar externamente la pieza, constatando la integridad de la cápsula de Glisson, la coloración y la textura superficial del órgano.
4. Describir si existe signos de cirrosis, aumento de consistencia del órgano, retracción de la cápsula, etc.

## II. HEPATECTOMÍA TOTAL

### MACROSCOPIA

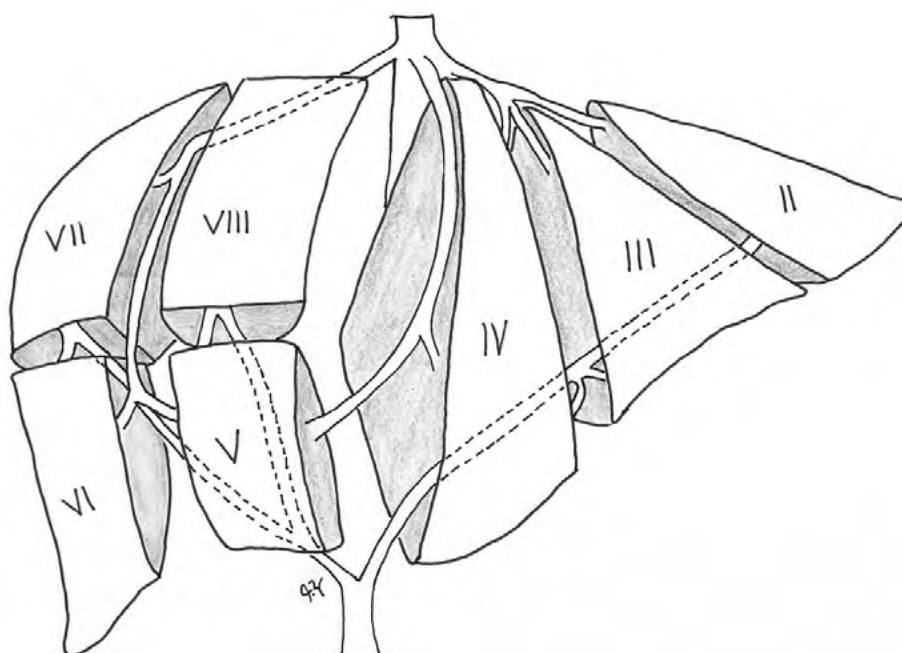
Una de las premisas más importantes es que la pieza quirúrgica llegue intacta al laboratorio de anatomía, para poder valorarla macroscópicamente. Si es posible en fresco para poder realizar estudios moleculares en caso que se requiera.

1. Debemos comprobar la permeabilidad de las venas suprahepáticas (derecha, media e izquierda) y tomar nota de cualquier alteración que encontremos en ellas (por ejemplo trombos).
2. En caso de que el hígado lleve consigo la vesícula biliar, debemos extraer la misma, disecando con tijeras desde el fondo hasta el cuello vesicular y seccionar en este punto. Es importante la inclusión del ganglio cístico, como adenopatía regional.
3. Hilio: una vez expuesto el hilio hepático debemos inspeccionar sus tres componentes; la vía biliar, la arteria hepática y la vena porta. Esta última generalmente se encuentra suturada, dato que nos ayuda para identificar la zona y realizar la incisión a este nivel. Una vez identificada se debe abrir las paredes de la vena a derecha e izquierda, de forma que nos cerciorem de su permeabilidad a lo largo de todo el trayecto. En ocasiones nos encontramos con piezas que portan un TIPS metálico, el cual debemos canularlo, abrirlo y comprobar su permeabilidad y después extraer y retirar su malla con precaución, dado lo punzante de sus hilos metálicos. Hay que recordar que la mayoría de estas piezas son cirrosis hepáticas secundarias a infecciones de virus de Hepatitis B o C.
4. Observar si existen adenopatías hiliares y en el caso de encontrarlas incluirlas todas.

### A. Corte de la pieza

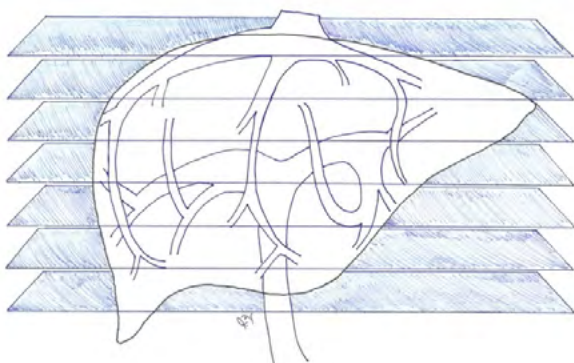
Existen dos maneras de cortar la pieza quirúrgica.

1. Realizando cortes perpendiculares a la zona hiliar de forma transversal al hilio, comenzando por la desembocadura de las venas suprahepáticas. Es preferible ésta última, principalmente para el estudio de piezas quirúrgicas con patología funcional, con la ventaja de poder examinar en un corte transversal todos los segmentos anatómicos (**Fig. 1**).

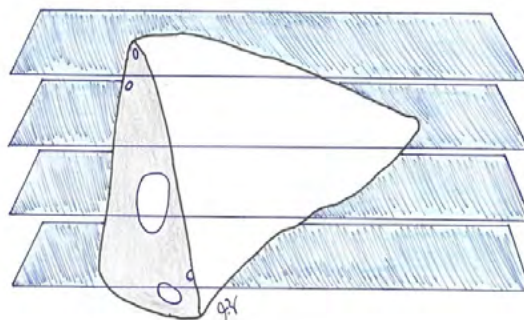


**Fig. 1:** Segmentos hepáticos. División anatómica

2. Se realiza el llamado corte "maestro": horizontal desde la desembocadura de las venas suprahepáticas hasta la inserción del ligamento redondo, en el borde hepático anterior, que generalmente expone a la inspección la primera bifurcación de vena porta.
3. Posteriormente cortes seriados transversales de la pieza en su parte superior e inferior (similares a los cortes de una tomografía axial computarizada) de un espesor de entre 5mm aproximadamente (**Fig. 2**).



**Fig. 2:** Corte trasversales en hepatectomía total. Grosor del corte (5mm.)



**Fig. 3:** Cortes perpendiculares al borde de resección. Grosor del corte (5mm.)

#### B. Fijación

La fijación de la pieza en formaldehído cubriendo la pieza por completo, con un volumen de fijador doble al tamaño de la pieza, a menos durante 24 a 48hs.

#### C. Inspección

1. Una vez fijada la pieza, sin perder la orientación anatómica de la misma, se debe examinar cada corte. En ocasiones los cortes, después de fijada la pieza podemos hacerlos más finos con un grosor de 5mm. para el estudio de lesiones de pequeño tamaño.
2. Realizar fotos macroscópicas y dibujar esquema de las lesiones, según su localización.
3. Debe describirse las lesiones teniendo en cuenta lo siguiente: localización, número, tamaño, color, consistencia, presencia de necrosis o hemorragia, invasión vascular y/o capsular.
4. Se considera nódulo satélite, si está separado por parénquima no tumoral y a menos de 1 cm. de distancia.

#### D. Inclusión

1. Se tomarán muestras representativas de todas las lesiones.
2. Si la lesión nodular es de menor o igual a 2 cm, incluir completamente el tumor.
3. Si la lesión es mayor de 2 cm, se debe incluir una muestra por cada centímetro de la lesión. Inclusión de una sección entera de la lesión, dividida en cuatro cuadrantes, con realización de un esquema de inclusión.
4. Incluir tumor en relación con parénquima no tumoral, con el objetivo de estudiar la presencia o no de cápsula, la invasión capsular y la transición.
5. Es importante analizar toda la lesión, destacar áreas heterogéneas e incluir centro y periferia.
6. Uno de los pasos más importante en la metodología de estudio de estas piezas es el análisis del parénquima no tumoral con el propósito de descartar la presencia de signos de hepatopatía crónica<sup>1</sup> u otras alteraciones. Se debe incluir una o dos muestras de cada segmento hepático, principalmente alejados de la lesión a una distancia mayor de 2 cm.<sup>2</sup>
7. Se debe incluir tres cortes como mínimos de la vesícula biliar (cuello, cuerpo y fondo).
8. Inclusión de muestras de las estructuras hiliares (arteria, vena y ducto biliar).
9. Inclusión de adenopatías regionales, incluyendo ganglio cístico.

10. Muestreo de venas suprahepáticas. Obtener un prisma con cuatro cortes verticales al corte «maestro» que incluya la primera bifurcación de la *porta hepatis* en el hilio. Seriar este prisma con cortes verticales paralelos de 2-3 mm de espesor de derecha a izquierda.

#### **BLOQUES INCLUIDOS:**

- Vesícula biliar (3 bloques): cuello, cuerpo y fondo.
- Hilio hepático (2 bloques):
- Adenopatías y grasa hilio hepático
- Desembocadura de cada vena suprahepática.
- Muestreo del parénquima hepático en dependencia de la patología estudiada. Si no hay tumor, un muestreo según esquema segmentario del parénquima hepático. Se debe incluir cualquier lesión tumoral sospechosa, con cambio de color y que mida más del 1 cm.

### **III. SEGMENTECTOMÍA**

#### **MACROSCOPIA**

1. Orientar anatómicamente la pieza y pesar la misma.
2. Realización de fotos macroscópicas.
3. Medir: realizar medición de la pieza quirúrgica de manera longitudinal, transversal y sagital.
4. Medir el largo y ancho del borde de resección quirúrgica de la pieza.
5. Teñir con tinta el borde de resección quirúrgico, antes de abrir la pieza.
6. Identificar la vena suprahepática correspondiente al segmento extirpado y realizar un corte horizontal, en su desembocadura hasta la inserción del ligamento redondo.
7. Apertura de la pieza: se realizarán cortes perpendiculares al borde de resección. Estos cortes deben tener un espesor de 5mm (Fig.3).
8. Se debe dejar fijando la pieza con un volumen doble del formaldehído para que cubra por completo la muestra durante por lo menos 24hs.
9. Inspección: una vez fijada la pieza se debe examinar cada corte e identificar la lesión, describiendo la localización, número, tamaño, color, consistencia, presencia de necrosis o hemorragia.
10. Medir la distancia de la lesión con respecto al borde de resección.
11. Describir el parénquima no tumoral.

#### **Inclusión:**

1. Se tomarán muestras representativas de las lesiones.
2. Si la lesión nodular es de menor o igual a 2 cm, incluir una sección completa del tumor.
3. Si la lesión es mayor de 2 cm, se debe incluir una muestra por cada centímetro de la lesión.<sup>4</sup> Se puede dividir en cuatro cuadrantes e incluir tumor en relación con parénquima no tumoral.
4. Análisis del parénquima no tumoral. Se debe incluir una o dos muestras de cada segmento hepático, principalmente alejados de la lesión.
5. Inclusión de muestras de las estructuras hiliares (arteria, vena y ducto biliar), en dependencia del segmento que se estudia.

#### **MICROSCOPIA**

El estudio microscópico de una pieza de resección hepática debe contener los siguientes datos:

1. Tipo de procedimiento; ya sea hepatectomía total, segmentectomía especificando el segmento correspondiente o trisegmentectomía.
2. Lesión: discriminar si la lesión tumoral es primaria o metastásica. En ambos casos se pondrá el tamaño de la lesión y si es única o múltiple.



**Tabla 1.** Gradación del Carcinoma Hepatocelular<sup>7</sup> (Modificación Sistema Edmondson y Steiner).

	CITOPLASMA	NÚCLEO	RELACIÓN N/C	COHESIÓN	FUNCIÓN CELULAR	ARQUITECTURA
<b>Grado I</b>	Acidófilo y Granular	Ligeramente anormal	Normal	Normal	Biliar	Normal
<b>Grado II</b>	Acidófilo, granular con bordes afilados y definidos	Grande y más hipercromático	Aumentado	Normal	Biliar	Frecuentes acinos
<b>Grado III</b>	Menos granular y acidófilo	Grande y más Hipercromático que el Grado II	Aumentado	Algunas células Seltas intravasculares	Biliar menos frecuente	Rotura o distorsión del patrón trabecular
<b>Grado IV</b>	Variable, Generalmente escaso con menos gránulos	Intensamente hipercromático	Muy aumentado	Falta de cohesión	Raros acinos con bilis	Trabéculas difíciles de encontrar. Células fusiformes pueden estar presentes

- Si es hepatocarcinoma, se debe colocar el grado histológico de diferenciación<sup>5</sup>, según Clasificación de Edmonson y Steiner (Tabla 1) o de la OMS 2.010 (Tabla 2).
- Extensión tumoral: si la lesión está circunscrita al hígado o afecta otras estructuras (afectación de la vena porta, vena hepática, vesícula biliar o perfora el peritoneo visceral).
- Borde quirúrgico: describir el borde quirúrgico, si se encuentra afecto o no y a que distancia se encuentra el tumor de esta. Consideramos margen afecto al contacto directo del tumor con el margen teñido o una distancia de menos del 1 cm.

**Tabla 2.** Gradación del Carcinoma Hepatocelular según la OMS 2.010.

	GRADO	TAMAÑO	PATRÓN DE CRECIMIENTO	DETALLE NUCLEAR
<b>1</b>	Bien Diferenciado	Menor de 2 cm. Hepato-carcinomas tempranos	Trabecular o pseudoglandular	Aumento relación N/C y poca atipia nuclear
<b>2</b>	Moderadamente diferenciado	Mayor de 3 cm.	Macrotrabecular o pseudoglandular	Inclusiones eosinófilas, bilis o material proteináceo. Nucleolo evidente
<b>3</b>	Pobremente diferenciado	Mayor de 3 cm. Menor de 2 cm, hipovascular	Sólido	Aumento relación N/C y marcada atipia nuclear
<b>4</b>	Indiferenciado	Mayor de 3 cm.	Sólido	Fusocelular o células pequeñas

6. Parénquima no tumoral: describir el parénquima no tumoral, en busca de patologías crónicas, estadio de fibrosis avanzada, enfermedades metabólicas de base o cualquier otra alteración. Para el estudio de la fibrosis hepática en pacientes tanto con trasplante hepático o no, se han utilizado varios esquemas de clasificación y estadificación, sin ser uno superior al otro. Uno de los más usados por parte de los clínicos es el Sistema de METAVIR que cuantifica la fibrosis hepática en 4 grados (Fig. 4). Se puede clasificar por medio de un sistema semicuantitativo o completamente cuantitativo<sup>6</sup>. Este último se ha utilizado mejor en estudios de investigación y no en la práctica diaria rutinaria.

Se puede utilizar por protocolo un panel de técnicas de histoquímica para el estudio funcional del parénquima no tumoral que incluye:

1. Para el estudio de la fibrosis hepática: tricrómico de Masson, Rojo sirius o Fibras de reticulina<sup>6</sup>.
2. Para estudio de depósitos férricos: Tinción de PERLS
3. Estudio de trastorno de cobre, que acompaña a procesos colestásicos: Orceína Shikata.
4. En busca de inclusiones intracitoplasmáticas (PAS y PAS diastasa).

En la evaluación anatomopatológica de la pieza quirúrgica de un paciente sometido a trasplante hepático por diferente etiología es imprescindible el estudio de la biopsia del donante desde el primer momento. El punto de partida es un análisis de los hígados nativos en el explante y posteriormente la biopsia del donante. El protocolo utilizado para la obtención de biopsias de post-trasplante varía de centro a centro. En muchos hospitales, una biopsia del hígado del donante se realiza inmediatamente después de la reperusión. Esta biopsia "tiempo cero" se utiliza como una evaluación de referencia para detectar enfermedades pre-existentes en el hígado del donante y para identificar los cambios relacionados con la conservación del órgano y la reperusión. En los protocolos de estudio de la pieza del explante, se debe incluir signos histológicos tempranos que nos puedan indicar trastornos severos de isquemia/reperusión o signos iniciales de rechazo humoral o celular u otras causas de disfunción temprana del injerto.

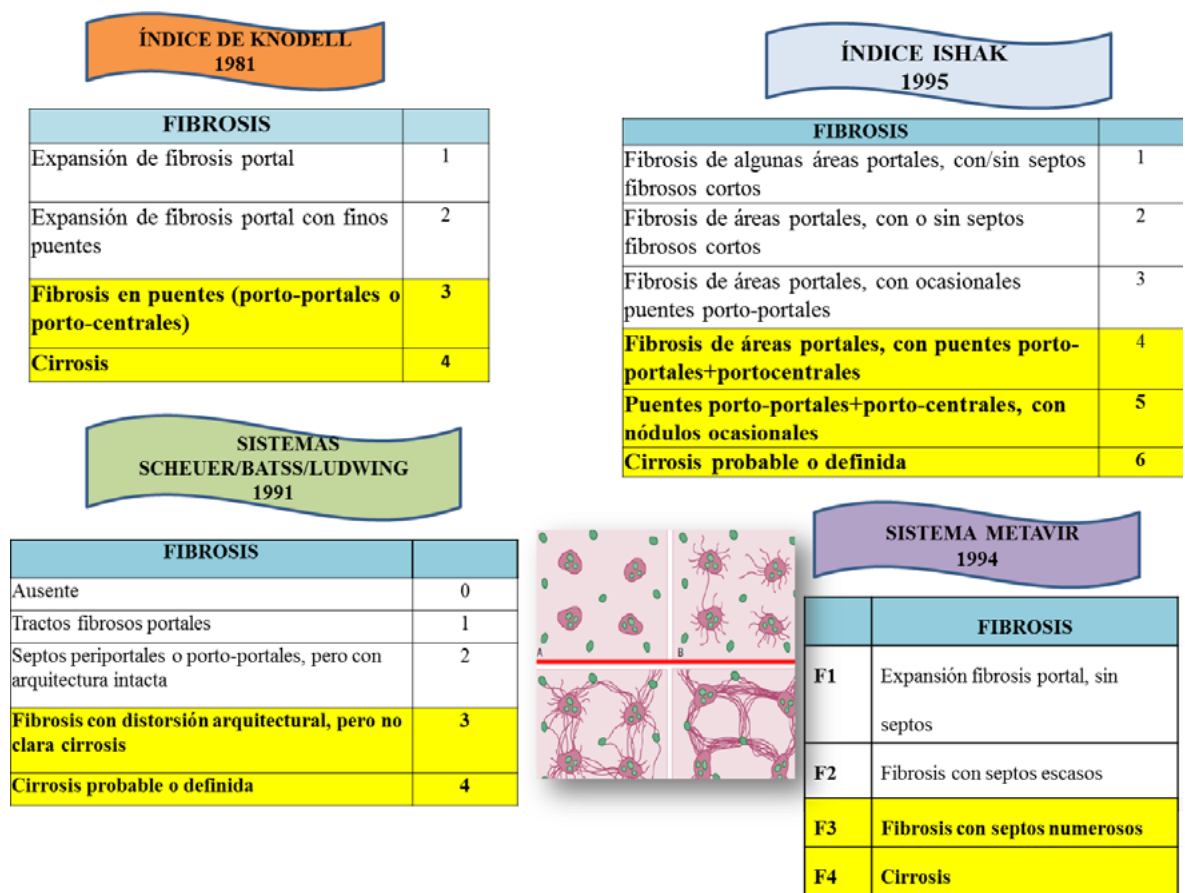


Fig. 4. Diferentes esquemas de estadificación de la fibrosis hepática<sup>6</sup>.

## CONCLUSIÓN:

El tallado de la pieza quirúrgica hepática tanto, de una hepatectomía total o parcial como una segmentectomía, debe realizarse de forma meticulosa y muy documentada, teniendo en cuenta, la correlación entre la anatomía patológica y los estudios de imágenes. Es importante seguir un protocolo de estudio y procesamiento de la pieza quirúrgica, para la correcta valoración de la misma y de esta forma unificar criterios y el informe de los hallazgos histológicos. Esto facilita la labor de los clínicos y cirujanos a la hora de interpretar el diagnóstico anatomopatológico y favorecer el seguimiento y tratamiento adecuado del paciente

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ruby SJ. Protocol for the examination of specimens from patients with hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma, including intrahepatic bile ducts. Cancer Committee of the College of American Pathologists. Arch Pathol Lab Med 2000; 124: 41-5.
2. Colina F *et al*: Protocolo y guía para el diagnóstico histopatológico de carcinoma hepatocelular. RevEsp Patol. nº 3: 147-160, Vol 40; 2007.
3. Varotti G *et al*: Comparison between the fifth and sixth editions of the AJCC/UICC TNM staging systems for hepatocellular carcinoma: multicentric study on 393 cirrhotic resected patients. Eur J SurgOncol. 31 (7):760-7, 2005.
4. Gómez Dorronsoro ML, Vera R, Ortega L, Plaza C, Miquel R, García M, Díaz E, Ortiz MR, Pérez J, Hördler C, Villar C, Antúnez J, Pereira S, López-Rios F, González-Cámpora R. Recommendations of a group of experts for the pathological assessment of tumour regression of liver metastases of colorectal cancer and damage of non-tumour liver tissue after neoadjuvant therapy. Clin Transl Oncol. 2013 Sep 10.
5. American Joint Committee on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York: Springer. 191-5, 2010.
6. Judith Pérez Rojas. Estudio morfométrico del estadio de fibrosis en el injerto hepático de pacientes con hepatitis c recurrente post-trasplante. Ann Arbor 2015. ISBN: 9781339262925.
7. Diagnóstico en patología hepatobiliar y pancreático. Editorial Marbán. 2013.
8. Edmondson Ha, Steiner Pe. Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies. Cancer. 1954 May; 7(3):462-503

**Anexo 1**  
**ESTUDIO MACROSCÓPICO PIEZAS QUIRÚRGICAS DE HEPATECTOMÍAS.**  
**Hospital Universitario La Fe de Valencia**

Tipo de muestra:  
Proceder quirúrgico:  
Peso (g):  
Tamaño (largo, ancho y profundidad)

**VESÍCULA BILIAR**

Dimensiones \_\_\_\_\_ Características \_\_\_\_\_

**HILIO HEPÁTICO (arteria, vena y conducto biliar)**

Presencia de trombos:            Sí \_\_\_\_\_            No \_\_\_\_\_

**SUPRAHEPÁTICAS (DERECHA, MEDIA E IZQUIERDA)**

Presencia de trombos:            Sí \_\_\_\_\_            No \_\_\_\_\_

**CARACTERÍSTICAS HEPÁTICAS MACROSCÓPICAS:**

Cirrosis: \_\_\_\_\_ Macrovesicular \_\_\_\_\_ Microvesicular \_\_\_\_\_

Otras:

**LESIÓN NODULAR**

Número de lesiones:    Solitario \_\_\_\_\_    Múltiples \_\_\_\_\_

Localización (segmentos) \_\_\_\_\_

Tamaño (3 dimensiones):

Cápsula \_\_\_\_\_

Coloración \_\_\_\_\_

Necrosis \_\_\_\_\_

Hemorragia \_\_\_\_\_

Cicatriz fibrosa \_\_\_\_\_

**INVASIÓN VASCULAR**

Vena porta \_\_\_\_\_ Arteria porta \_\_\_\_\_ Venas suprahepáticas \_\_\_\_\_

**EXTENSIÓN**

Cápsula Glisson \_\_\_\_\_ Vesícula biliar \_\_\_\_\_ Ducto biliar \_\_\_\_\_

## Anexo 2

### PROTOCOLO DE ESTUDIO MICROSCÓPICO DE LAS PIEZAS TUMORALES DE HEPATECTOMÍA TOTAL. Hospital Universitario La Fe de Valencia

Tipo de muestra \_\_\_\_\_  
Proceder quirúrgico \_\_\_\_\_  
Número de lesiones \_\_\_\_\_  
Localización del tumor \_\_\_\_\_ Tamaño (mm.) \_\_\_\_\_  
Tipo histológico \_\_\_\_\_  
Grado histológico \_\_\_\_\_  
Extensión del tumor \_\_\_\_\_  
Patrón de crecimiento \_\_\_\_\_  
Cápsula: \_\_\_\_\_  
Invasión capsular: \_\_\_\_\_  
Necrosis: \_\_\_\_\_  
Infiltración de estructuras hiliares:  
Arteria hepática \_\_\_\_\_ Vena porta \_\_\_\_\_ Ducto biliar \_\_\_\_\_  
Invasión vascular: \_\_\_\_\_ Invasión linfática: \_\_\_\_\_ Invasión perineural: \_\_\_\_\_

Clasificación del TNM (7ª edición):

Parénquima no tumoral (Estudio técnicas histoquímica: Tricómico de Masson, PERLS, reticulina, PAS y Pas diastasa)

Técnicas de inmunohistoquímica (Si se requiere)

Estudio de adenopatías:

#### BIOPSIA PRE-POST REPERFUSIÓN

1. Dilatación sinusoidal:
2. Esteatosis macrovesicular: \_\_\_\_\_ Cuantía:
3. Esteatosis microvesicular: \_\_\_\_\_ Cuantía:
4. Exudación neutrófilica: \_\_\_\_\_
5. Binucleación: \_\_\_\_\_
6. Necrosis: \_\_\_\_\_
7. Hemorragia: \_\_\_\_\_
8. Fibrosis: \_\_\_\_\_ Tricómico de Masson: \_\_\_\_\_

**Anexo 3**  
**CLASIFICACIÓN TNM DE LOS TUMORES MALIGNOS HEPÁTICOS**  
**(7ª EDICIÓN)**

**T - Tumor primario**

TX El tumor primario no puede ser evaluado

T0 No evidencia de tumor primario

T1 Tumor solitario sin invasión vascular

T2 Tumor solitario con invasión vascular o tumores múltiples, pero ninguno mayor de 5 cm de diámetro

T3a Tumores múltiples con más de 5 cm de diámetro

T3b Tumor solitario o múltiple, independiente del tamaño, que invada una de las ramas principales de la vena porta o vena hepática.

T4 Tumor con invasión directa de órganos adyacentes que no sea la vesícula biliar o tumor con perforación del peritoneo visceral

**N -Ganglios regionales** (hiliares, hepáticos –en torno de la arteria hepática– y los de vena cava (Subfrénicos)

NX Los ganglios regionales no pueden ser evaluados

N0 Ausencia de metástasis en ganglios regionales

N1 Metástasis en ganglios regionales

**M - Metástasis distantes**

MX Metástasis distantes no pueden ser evaluadas

M0 No evidencia de metástasis distantes

M1 Metástasis distantes

# Tres lesiones nodulares hepáticas. Características histológicas e inmunohistoquímicas. Diagnóstico diferencial cito histológico.

Judith Pérez Rojas, María Josefina Artes Martínez, Mireya Prieto Rodríguez, Francisco Vera Sempere.  
*Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario y Politécnico de La Fe, Valencia*

## Palabras claves:

Hepatocarcinoma (HCC)  
Hiperplasia nodular focal (HNF)  
Glutamina Sintetasa (GS)  
Proteína del shock térmico de 70 KDa (HSP 70)  
Proteína transportadora de Ácidos grasos (FABP)  
Factor nuclear hepatocitos 1 $\alpha$  (HNF1 $\alpha$ )  
Esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)  
Adenocarcinoma (ADC)

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

Los tumores hepáticos benignos son un grupo de lesiones nodulares originadas a partir de las diferentes células presentes en el hígado. Los más habituales son el hemangioma, el adenoma hepatocelular y la hiperplasia nodular focal. En ocasiones, uno de los mayores problemas diagnósticos es diferenciarlos entre sí y sobre todo con los hepatocarcinomas.

A menudo se detectan por medio de las técnicas de imagen actuales (ecografía, TAC y RNM) se establece asimismo un diagnóstico por el diferente comportamiento que tienen en la captación del contraste, que permite su diferenciación entre sí y con los tumores malignos. La RNM es la técnica con mayor eficacia diagnóstica. En algunas ocasiones es necesaria una biopsia del nódulo mediante punción percutánea guiada por ecografía o exéresis lesional que posibilitara un diagnóstico definitivo.

El uso de protocolos diagnósticos anatomo-patológicos junto con una historia clínica detallada, con el conocimiento de antecedentes de uso de anticonceptivos orales, esteroides, consumo de alcohol, antecedentes de hepatopatía crónica entre otras es imprescindible para establecer un diagnóstico definitivo.

## II. HIPERPLASIA NODULAR FOCAL

La hiperplasia nodular focal (HNF) es una lesión en primer lugar de características benigna, con un crecimiento nodular de carácter regenerativo anteriormente llamada "cirrosis focal", compuesto por hepatocitos y banda de fibrosis, con una cicatriz central. Generalmente la HNF se desarrolla en hígados no cirróticos, pero en ocasiones podemos encontrar una lesión focal en hígados con hepatopatía crónica y fibrosis avanzada.<sup>1</sup>

El mecanismo de producción de estas lesiones es aún desconocido. Son lesiones con un comportamiento reactivo, que se desarrollan debido a una derivación o anomalía localizada de flujo sanguíneo arterial. Es una lesión policlonal, donde el tratamiento hormonal y esteroideo no tiene implicación a diferencia de los adenomas hepáticos y donde los casos atípicos de HNF se ha reclasificado como procesos clonales vinculados a síndromes metabólicos u obesidad.<sup>2</sup>

Estas lesiones ocurren generalmente en mujeres jóvenes y de edad media. Se detectan por lo general de forma accidental y con pruebas bioquímicas normales.

Son lesiones de buen pronóstico y su transformación maligna es muy rara.

### A. CAMBIOS HISTOLÓGICOS:

Enumeraremos los hallazgos histológicos que encontraremos en una HNF<sup>3</sup>:

1. Lesión nodular formada por hepatocitos y separada por amplias bandas fibrosas con una cicatriz central y con grandes vasos tanto en la periferia, como en el centro de la lesión.
2. Ausencia de cápsula.
3. Los hepatocitos carecen de atipia nuclear y las trabéculas conservan el grosor de 2 a 3 núcleos celulares.
4. Prominente reacción ductular y cambios de metaplasia colangiolar de los hepatocitos detectables con las citoqueratinas.
5. Presencia de cobre en los bordes de las bandas fibrosas, debido a la colestasis.

Su diagnóstico en la biopsia por punción puede no ser sencillo y así en la literatura se recoge que solamente se diagnostica correctamente la HNF, en la biopsia por punción, en un 25 a 50 % de los casos aproximadamente<sup>4</sup>.

La arquitectura general y las características citológicas son datos de utilidad a la hora de establecer el diagnóstico de HNF en biopsias por punción. El uso de un panel de histoquímica / inmunohistoquímica puede ayudar a realizar el diagnóstico con certeza<sup>5</sup> en caso dudosos, permitiendo excluir diagnósticos diferenciales alternativos, tales como hepatocarcinoma y adenomas, sobre todo de tipo inflamatorio.

### B. TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS E HISTOQUÍMICAS

El panel de técnicas inmunohistoquímicas incluiría<sup>6</sup>:

1. **Glutamin sintetasa:** que en estos casos conservaría el mapeo perivenular normal. La positividad difusa intensa o negativa sería más consistente con un hepatocarcinoma bien diferenciado o incluso adenomas del tipo mutación de la  $\beta$  Catenina.
2. La **Citoqueratina 7 (CK7):** que pone en evidencia la reacción ductular y los cambios de metaplasia colangiolar hepatocitaria, secundaria a la colestasis.
3. El **Amiloide A:** nos ayudaría a diferenciar las hiperplasias nodulares atípicas, actualmente incluidas en el grupo de adenomas inflamatorios, al tratarse de verdaderos procesos tumorales, de carácter clonal.
4. En caso de duda diagnóstica con respecto al hepatocarcinoma bien diferenciado podríamos completar el panel inmunohistoquímico con **Glypican 3 y HSP 70.** Aunque en estos casos, una buena observación morfológica en busca de los rasgos histológicos típicos será a menudo suficiente para un buen juicio anatómo-patológico.

También están indicadas el uso de técnicas de especiales o de histoquímicas convencional tales como:

1. **Tricrómico de Masson:** que nos ayuda a visualizar la cicatriz central y las bandas fibrosas, si bien hay que recordar que las lesiones de gran tamaño pueden carecer de cicatriz central, estando solo presentes presente en el 50% de las HNF de menor tamaño.



2. La **Orceína o Rodamina** nos ayudaría a corroborar el depósito de cobre secundario a la colestasis.

### C. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Incluye los adenomas inflamatorios, también denominados adenomas telangiectásicos. Los hallazgos histológicos que favorecen la HNF incluyen bandas fibrosas, vasos anormales de paredes gruesas y proliferación ductular, parcheada y localizada dentro de las bandas fibrosas. Los adenomas inflamatorios también tienen proliferación ductular, pero están localizadas en espacios portas falsos y no en bandas fibrosas. La positividad frente al Amiloide A o Proteína C reactiva ayudan al diagnóstico, por lo que deben incluirse en el panel de estudio de las lesiones nodulares benignas<sup>3</sup>.

### D. TÉCNICAS ESPECIALES Y DE HISTOQUIMIA EN EL PARÉNQUIMA NO TUMORAL.

En la mayoría de los laboratorios de AP se incluyen coloraciones de hematoxilina - eosina (H/E), una coloración de hierro (tinción de Perls), coloraciones para el estudio de la fibrosis colágena y reticulínica (Rojo Sirius, fibras de reticulina y tricromico de Masson).

Es importante valorar el ambiente en que se ha formado la lesión nodular. Se debe analizar zonas lejanas a la lesión, en busca de si el parénquima no tumoral presenta signos de hepatopatía crónica de base o no.

## III. ADENOMA HEPÁTICO

El adenoma hepático es una neoplasia de origen hepatocelular de carácter benigno. La aparición de más de 10 lesiones adenomatosas es denominada adenomatosis múltiple. La epidemiología de esta lesión tumoral benigna ha ido cambiando en los últimos 10 años.

En el pasado, el adenoma hepatocelular se desarrollaba por lo general en mujeres en edad reproductiva (entre 15 y 45 años), casi siempre asociado con el consumo de anticonceptivos<sup>7-8</sup>. El descubrimiento de los cambios moleculares en los adenomas hepáticos en los últimos años ha dado lugar a un renovado interés por este tipo de tumor. Así en dos grandes series recopiladas en la década de 1970, la edad media fue de 30 años y la mayoría de los pacientes tenían entre 20 y 39 años<sup>4</sup>. En dos series la edad promedio se establecía en 37 – 41 años<sup>9-10</sup>.

Aunque la incidencia absoluta de esta lesión era muy bajo, estudios epidemiológicos de casos descritos en la década de 1970 reportaron una incidencia anual de cerca de 3-4 casos /100 000 consumidores de anticonceptivos orales por más de 5 años, pero solo 1/1 000 000 en las no consumidoras o las mujeres expuesta a anticonceptivo en un tiempo menor a 2 años.<sup>11</sup>

La incidencia de estos adenomas secundarios a los estrógenos ha disminuido en los últimos años debido al uso de dosis farmacológicas más bajas<sup>12</sup>. El mecanismo exacto no se conoce, pero se piensa que los esteroides juegan un papel de agentes promotores más que de iniciadores en la formación de estos tumores hepatocelulares<sup>13-14</sup>. Varios adenomas no reseables han regresados después de la suspensión del esteroide y esto apoya la hipótesis anteriormente señalada<sup>15-16</sup>. Además, otras hormonas esteroideas, como los estrógenos no anticonceptivos<sup>17</sup> y anabólicos / androgénicos esteroideos<sup>18</sup> se han asociado con la aparición de adenomas hepatocelulares.

Recientemente se han reportado **tres condiciones clínicas** donde la incidencia de adenomas hepatocelulares no está implicada con la ingestión de anticonceptivos:

- *Las enfermedades hereditarias por almacenamiento de glucógeno* tipo Ia, III y IV<sup>19-20</sup>. Los pacientes con estos trastornos pueden desarrollar adenomas múltiples.
- *Las formas de herencia autosómica dominante de la diabetes mellitus familiar, denominada MODY3*<sup>21</sup>. Los pacientes con este trastorno también desarrollan adenomas múltiples y se han asociado con la mutación germinal del gen TCF1, que codifica el factor nuclear hepatocitario 1α (HNF1α), un factor de transcripción que controla numerosos genes del hígado. Las mutaciones somáticas con HNF1α inactivación también se encuentran en un 35-50% en las formas esporádicas o de adenomas asociados a la ingesta de anticonceptivos orales, lo que ha modificado substancialmente la patogenia de estos

tumores. Los tumores que carecen de mutaciones en el HNF1 $\alpha$  pueden tener mutaciones en los genes que conducen a la activación de la  $\beta$ -catenina o en el IL6ST gen que codifica la señalización co-receptor gp130, que conduce a la activación STAT3.

- *La obesidad*<sup>2</sup>, condición clínica asociada a los adenomas que está aumentando su incidencia en los últimos años. En esta condición aumenta la incidencia de los adenomas clasificados como inflamatorios, antiguamente incorporados en el grupo de hiperplasia nodular focal. Este grupo tiene igual frecuencia tanto en los hombres como en las mujeres.

La cirugía sigue siendo el tratamiento fundamental de los adenomas, evitando así posteriores roturas o hemorragias que pongan en peligro la vida del paciente y el opcional riesgo de transformación maligno que afortunadamente es raro. Hay casos descritos de hepatocarcinomas que se establecieron después de resecaos adenomas múltiples<sup>22</sup> y estas lesiones se considera que representan focos de hepatocarcinomas resecao dentro de adenomas.<sup>23</sup> También se ha descrito regresión de estos tumores con la suspensión de los esteroides por vía oral<sup>15</sup>. Los casos asociados con la enfermedad por almacenamiento de glucógeno pueden regresar con la terapia dietética.<sup>24</sup> Los tumores no resecaos o los casos de adenomatosis pueden ser tratadas por un trasplante hepático, pero en general se recomienda el tratamiento conservador.<sup>25</sup>

### A. CAMBIOS HISTOLÓGICOS:

Desde el punto de vista histológico los adenomas se componen de hepatocitos sin atipicidad, dispuestos de manera trabecular, pseudoacinar, sin evidencia de alteración de la arquitectura normal hepatocitaria. Las células tumorales son usualmente de mayor tamaño y más pálidas que los hepatocitos no tumorales observables en el tejido circundante, debido al aumento de glucógeno citoplasmático y / o grasa. La grasa puede ser muy abundante, simulando un hígado graso.

Otra característica que se ha reportado es la presencia de bilis dentro de canalículos dilatados asociados a gránulos citoplasmáticos de lipofuchina, pigmento de Dubin-Johnson (adenomas hepáticos pigmentados) y rara vez cuerpos de Mallory-Denk. La fibrosis perisinusoidal o la balonización citoplasmática, son signos que nos declinarían por una esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).<sup>25</sup> Los núcleos de las células tumorales suelen ser uniformes y regulares, la relación núcleo-citoplasma es baja y las mitosis son escasas.

Los tumores incidentales, especialmente en pacientes con una larga exposición a los anticonceptivos esteroides pueden tener un núcleo pleomórfico teniendo entonces que establecer el diagnóstico diferencial con los nódulos displásicos.

Los adenomas hepáticos por lo general no tienen cicatriz central como la hiperplasia nodular focal, pero las áreas de fibrosis y la formación de tabique pueden estar presentes, especialmente en aquellos casos asociados con enfermedad por almacenamiento de glucógeno.

Los conductos biliares interlobulares no se encuentran en los adenomas pero conductillos biliares y las células progenitoras pueden estar presentes.<sup>26</sup>

La presencia de sinusoides dilatados, ductulos y la inflamación, está presente en los tumores antiguamente clasificados como variante telangiectásica de la hiperplasia nodular focal y que actualmente tras llevar a cabo estudios moleculares son reclasificados como adenomas inflamatorios o telangiectásicos.<sup>2,27</sup>

En los últimos años y siguiendo las recomendaciones del libro de la OMS del 2010<sup>28</sup> se ha tratado de enmarcar los adenomas en cuatro grupos según su expresión genética, inmunofenotípica<sup>29</sup> y características típicas desde el punto de vista morfológico para su mejor tratamiento y seguimiento clínico.

### B. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

A diferencia de los *nódulos displásicos* los adenomas no deben poseer atipia nuclear y al igual que los nódulos displásicos la ausencia de mitosis es una de las claves diagnósticas. Estas neoplasias son bien diferenciadas y se asemeja mucho al parénquima hepático normal.

Para diferenciarlos de los *HCC bien diferenciados*, señalar que estos carecen de cápsula. Presentan ausencia de espacios portas, al igual que los HCC. Pueden presentar arteriolas impares aberrantes en menos cuantía que los HCC. La presencia de mitosis es una de las claves en el diagnóstico diferenciar con los HCC,

bebiendo este hallazgo orientarnos hacia la malignidad de la lesión. La presencia de colestasis canalicular o hepatocelular son signos histológicos más frecuentes de *HNF* o HCC. Los adenomas hepatocelulares raramente se acompañan de cambios colestásicos. La rotura de las fibras de reticulina nos debe llevar al diagnóstico de HCC.

Los cambios arquitecturales consistentes en formaciones pseudoglandulares no son típicos de adenomas hepatocelulares, con la excepción de los adenomas con mutación de la  $\beta$  catenina que realmente son HCC bien diferenciados y deben ser tratados como tales. En el caso que no se pueda diferenciar entre adenoma o HCC se debe usar el término de Neoplasia hepática bien diferenciada, donde la resección quirúrgica es el tratamiento de elección y de curación, en estos casos.

### C. TECNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS

La nueva clasificación molecular de los adenomas, nos permite hacer un acercamiento eficaz a la caracterización inmunohistoquímica de los distintos tipos de adenomas. Esta clasificación se resume en la Fig. 2. Pero solo se debe hacer, después de estar seguros que se trata de un adenoma hepatocelular. Un ejemplo de clara confusión es cuando tenemos una lesión nodular, con células de hábito claro, cambios glucogenados y grasos, grandes vasos, no encapsulada y el origen no es hepatocelular, sino de los pericitos de los vasos hepáticos (Pecomias). En este caso también podemos encontrar negatividad inmunohistoquímica frente al FABP y positividad leve frente a la Glutamin Sintetasa. La morfología y la negatividad de las células tumorales frente al Hepatocyte son la clave diagnóstica y la evidencia de un origen no hepatocelular.

Otro ejemplo muy habitual, es cuando nos encontramos con una biopsia por punción con cambios focales grasos o signos difusos de esteatohepatitis y lo confundimos con lesión focal adenomatosa de tipo esteatótico.

Los HCC también pueden presentar positividad similar que imiten los adenomas (Glutamin sintetasa y  $\beta$  catenina). Por lo tanto, lo más importante es hacer el diagnóstico morfológico certero de adenoma y luego adscribirlo en los diferentes subtipos, en base a su caracterización inmunomorfologica.

En relación a la expresión de marcador de proliferación Ki67 cabe señalar que un bajo índice de proliferación nuclear, no sirve para diferenciar los adenomas de los HCC bien diferenciados ya que ambas entidades pueden tener índices de proliferación nuclear (Ki-67) inferiores al 1%. Eso sí, la detección de un Ki 67 alto, se opone al diagnóstico de adenoma, al igual que la existencia de una evidente atipia nuclear o presencia de mitosis.

## IV. CARCINOMA HEPATOCELULAR

El carcinoma hepatocelular es un tumor epitelial maligno con diferenciación hepatocelular. Los pacientes de sexo masculino, portadores de hepatopatía crónica son más susceptibles a presentar un hepatocarcinoma, siendo la edad promedio los 65 años y aumentando su incidencia después de los 45 años. La causa más frecuente a nivel mundial es la hepatitis B, pero en EEUU y gran parte de Europa y Japón la hepatitis crónica C es el factor de riesgo más frecuente.

Actualmente, con las nuevas pautas de tratamiento de la hepatitis C, se empieza a notar un aumento en el diagnóstico de otros factores etiológicos tales como alcohol, síndrome metabólico, sin olvidar otros trastornos metabólicos y genéticos que también pueden predisponer a la aparición de HCC.

El 70 al 90 % de los casos de HCC se desarrollan sobre hígados cirróticos, asociándose en mayor medida con la cirrosis macronodular. El 15 al 20 % de HCC se desarrollan en hígados no cirróticos. De estos el 50 % tendrán enfermedad hepática crónica, sin fibrosis avanzada. Otra patología vinculada al desarrollo de HCC sin cirrosis es la transformación maligna de los adenomas, así como la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

### A. DIAGNÓSTICO DE HCC

La PAAF es un arma diagnóstica de valor en el diagnóstico de las LOEs hepáticas, permitiendo, generalmente, un correcto diagnóstico.<sup>28-30</sup> La muestra obtenida suele ser satisfactoria y permite, con un rastreo lesional adecuado, en distintas direcciones, el estudio de un área más extensa que el conseguido por biopsia.

- Las **indicaciones de la PAAF** hepática son las clásicas:
  1. Distinción entre proceso benigno o maligno.
  2. En el caso de las lesiones benignas, si se trata de un proceso inflamatorio o tumoral.
  3. En el caso de las lesiones malignas, si éstas son primarias o metastásicas.
- Las **contraindicaciones** son escasas:
  1. Sospecha de Quiste Hidatídico.
  2. Sospecha de lesión vascular.
  3. Alteraciones de la coagulación.

Consideramos necesaria la observación “in situ” del material obtenido, tanto para la valoración de la representatividad de la muestra como para la optimización de la misma.

Este último apartado es importante. La optimización de la muestra depende, en gran parte, de la pericia del patólogo, que puede indicar la toma de muestra, bien para cultivo en el caso de lesiones inflamatorias, bien para estudio citomorfológico en el caso de sospecha de neoplasia hematológica.

En cuanto al manejo de la muestra destinada al estudio citológico, es importante la utilización de extensiones dejadas secar al aire (tinción de Diff Quick), extensiones en alcohol (tinción de Papanicolaou), así como la obtención de un bloque celular. Este último, junto a las extensiones procesadas con la tinción de Papanicolaou, pueden ser utilizadas satisfactoriamente para determinaciones inmunohistoquímicas y estudios moleculares.

El diagnóstico se basará en los **criterios citológicos** establecidos clásicamente. En cuanto al HCC son los siguientes:

1. Aspecto granular de la extensión.
2. Hiper celularidad.
3. Morfología hepatocitaria de las células.
4. Presencia de grupos cohesivos y trabéculas.
5. Endotelización periférica.
6. Estructuras acinares.
7. Aumento de la relación núcleo/citoplasma.
8. Núcleos desnudos atípicos.
9. Células neoplásicas multinucleadas.
10. Bilis.
11. Vacuolización citoplasmática.
12. Pseudoinclusiones intranucleares.
13. Necrosis.
14. Células inflamatorias.
15. Ausencia de epitelio biliar.

En cuanto a la importancia de estos criterios, aquéllos que consideramos decisivos son la endotelización periférica y la presencia de núcleos atípicos, sin olvidar la importancia de la ausencia de epitelio biliar. Actualmente, asimismo, es necesario confirmar inmunohistoquímicamente el diagnóstico de Hepatocarcinoma con la utilización de Hep Par 1, Glypican 3, Glutamyl Sintetasa y CD 34, teniendo en cuenta que, además, se pueden requerir otras determinaciones en caso de diagnóstico diferencial de otras neoplasias, ya sean primarias o metastásicas.

## **B. LA INDICACIÓN DE LA BIOPSIA HEPÁTICA**

La indicación de la biopsia hepática en pacientes portadores de HCC es limitada. Las directrices en la mayoría de los centros están basadas en la guía de la Asociación Americana de Enfermedades del Hígado (AASD) y en la última conferencia de la Sociedad Europea de Estudio del Hígado.

La biopsia principalmente está indicada en tumores únicos o múltiples mayores de 1 cm, que en los estudios de imagen no sean típicos de HCC, así como en mayores de 2 cm, a no ser que cursen con carga tumoral alta de alfa feto proteína (200ng/ml).<sup>31</sup> Siempre estaría indicada en los pacientes con nódulos hiper-

vasculares, sin cirrosis subyacente. El mayor problema es cuando nos enfrentamos con nódulos pequeños, hipovasculares, en pacientes cirróticos.

Desde el punto de vista anatómico el diagnóstico no es difícil y es fácilmente reconocible con coloraciones de H/E, principalmente a partir del grado de diferenciación moderadamente diferenciado (G2) (Fig. 1) Existe una regla de utilidad diagnóstica, que establece que cuando hay seguridad de diagnóstico con simplemente la H/E, estos se catalogan como HCC moderadamente diferenciado (G2). Existe varios patrones de lesión arquitectural (trabecular, pseudoglandular o acinar, patrón compacto, esirro, de células gigantes o fusocelular o sarcomatoso) y así mismo recientemente se ha publicado casos de tipo difuso cirrosis like o cirrótico-miméticos.<sup>32</sup>

Desde el punto de vista morfológico los HCC opcionalmente presentan:

1. Células poligonales, con nucléolo prominente e inclusiones intranucleares en ocasiones.
2. Pueden presentar inclusiones, cuerpos de Mallory Denk o inclusiones eosinófilas.
3. Células con hábito de células claras, por la presencia de acumulación del glucógeno, grasa o hídrico.
4. Presencia de bilis intracanalicular.

### C. TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

El uso de las técnicas de inmunohistoquímica dependerá en muchos casos del grado de diferenciación, de la habilidad diagnóstica del patólogo y el tipo de técnica inmunohistoquímica dependerá de si el diagnóstico de HCC se hace sobre tejido hepático o sobre una metástasis. En el primer caso, el diagnóstico diferencial será con las lesiones benignas o malignas de origen hepático (*nódulo regenerativo, nódulo displásico, HNF o adenoma hepático*). En este caso se podrá utilizar:

1. Glypican 3, HSP 70 y Glutamin Sintetasa para la confirmación del HCC.
2. CD 34 para confirmar la presencia de vascularización sinusoidal.
3. La reticulina que nos ayudaría a estudiar la arquitectura de la lesión y el engrosamiento trabecular.
4. El índice de proliferación nuclear (Ki 67) en nuestra opinión apreciamos que solo es útil si es alto, porque muchos HCC de moderado grado de diferenciación presentan in Ki 67 inferior al 2%.
5. Otras técnicas como alfa feto proteína son menos usadas en la rutina práctica diaria, pues en menos del 10% de los casos muestran positividad. El p-CEA no nos ayudaría para diagnosticar el carácter maligno de la lesión hepatocelular.
6. Otros marcadores menos estudiados que se pueden utilizar para el diagnóstico temprano de HCC son la Cadena Pesada de Clatrin (CHC)<sup>33</sup> y la Ciclasa asociada a la Proteína 2 (CAP 2).<sup>34-35</sup>

En el caso de duda diagnóstica entre Adenoma /HCC bien diferenciado la positividad frente al Glypican 3 o HSP 70 nos apoyarían el diagnóstico de HCC. Frecuentemente los HCC bien diferenciados muestran negatividad frente al Glypican 3, siendo el HSP 70 más sensible en etapas tempranas del desarrollo tumoral. La Glutamin Sintetasa puede ser fuertemente positiva en el caso de los adenomas con mutación frente a la  $\beta$  Catenina y en los HCC. Además la presencia de capilarización sinusoidal es un hallazgo histológico que puede estar presente en las dos lesiones.

Si se tratase del caso de un HCC como diagnóstico de metástasis, el mayor problema es demostrar el origen hepatocelular de la lesión, puesto que la malignidad queda implícita en la lesión. En este caso el panel IHQ fundamental debe estar dirigido a este objetivo utilizando fundamentalmente el Hepatocyte, si bien hay que tener la precaución que recordar que el Hepatocyte puede estar presente en adenocarcinomas hepatoides, en colangiocarcinomas y adenocarcinomas de diferentes localizaciones. Además los HCC indiferenciados pueden mostrar negatividad frente al Hepatocyte. En estos casos otras técnicas como el p-CEA, CD 10 (patrón de positividad canalicular), y el alfa feto proteína nos pueden ayudar para demostrar la naturaleza hepatocitaria de la lesión.

Uno de los casos, al que con frecuencia habremos de enfrentarnos, es cuando tenemos que hacer el diagnóstico diferencial entre un HCC pobremente diferenciado y un adenocarcinoma. En estos casos, el uso de otros anticuerpos unidos al Hepatocyte, como citoqueratinas (CK7, CK20), factor de transcripción intestinal o pulmonar (CDX2 o TTF1) o de proteínas de adhesión de membranas (MOC 31), nos ayudarían al

diagnóstico, conjuntamente con los hallazgos morfológicos y los datos clínicos del paciente. En este sentido el establecer un diagnóstico con la simple observación de un único anticuerpo inmunohistoquímico, aumenta la posibilidad de caer en un error de interpretación. El MOC 31 y la CK7 son positivos en un 30 % de los HCC. EL TTF1 revela una positividad citoplasmática en HCC y colangiocarcinomas. El uso del Glypican 3, HSP 70 y la Glutamin Sintetasa en este caso no nos confirmaría al 100% el origen de la lesión, Estos anticuerpos pueden mostrar positividad en otros tumores y uno de los más señalados es la expresión de Glypican 3 en tumores embrionarios y melánicos.

#### D. EXAMEN DEL PARÉNQUIMA NO TUMORAL

Es muy importante examinar el hígado de base sobre el que se establece la lesión, es decir el parénquima no tumoral. Si la lesión nodular asienta sobre un hígado cirrótico o con hepatopatía crónica el espectro de diagnóstico diferencial abarcaría un espectro lesional que va desde macronódulo regenerativo, nódulos displásicos al HCC. Sin olvidar los tumores combinados (HCC- colangiocarcinomas) o los tumores glandulares de vía biliar.

En el caso de ausencia de hepatopatías crónicas el espectro de diagnóstico diferencial varía desde la HNF, además a HCC sin hepatopatía crónica.

En este sentido se debe seleccionar un corte lo más lejano de la zona tumoral (a más de 1cm) y estudiar el hígado no tumoral, estadiar el grado de fibrosis, grasa, inflamación y grado de progresión de la patología de base.

#### E. PRONÓSTICO

El factor pronóstico lo marca la reseccabilidad del tumor, con márgenes libres. Unido a esto, la edad joven, el sexo femenino y la ausencia de cirrosis de base son factores indicativos de un mejor pronóstico. En el estadiaje influye también el tamaño del tumor, número de tumores, embolización angiolinfática, embolización vena porta. Otro acápito es el grado de diferenciación. Este aspecto debe evitarse en las biopsias por punción, pues puede variar mucho en las piezas de resección al ser la biopsia cilíndrica más selectiva y con menor representación del tejido tumoral.

#### V. OTROS DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES:

##### NÓDULO DISPLÁSICO:

Es un diagnóstico exclusivo de un hígado cirrótico. Consiste en uno de los nódulos regenerativos cirróticos que experimentan cambios citológicos displásicos, pero no concluyentes de malignidad. Es un término difícil de establecer desde el punto de vista histológico, pero la clave son cambios nucleares y citológicos entre un hígado cirrótico y un HCC.

Estos cambios se pueden resumir en:

1. Formación de seudoglándulas.
2. Presencia de arteriolas impares, pero con la presencia de espacios portas en el nódulo.
3. Leve atipia nuclear, con cambios de células grandes y células pequeñas que consiste en la cuantía del citoplasma en dependencia de la relación núcleo/citoplasma.
4. *Una de las claves diagnóstica es la ausencia de mitosis y la ausencia de rotura de fibras de reticulina entre las trabéculas.*

##### INMUNOHISTOQUIMIA:

1. Alfa feto proteína: negativa.
2.  $\beta$  Catenina: Positividad membranosa habitual.
3. HSP 70 y Glutamin Sintetasa: pueden ser positivos.
4. Glypican 3: por lo general negativo.

Se debe realizar (Glypican 3, HSP 70 y Glutamin Sintetasa), buscando la negatividad de los tres o de dos de ellos.

**La división de nódulos displásicos de bajo y alto grado no es útil en la rutina diaria y puede llevar a confusión. Se debe evitar estos términos en los diagnósticos de biopsias cilíndricas.**

#### **VI. CONCLUSIÓN:**

En general, los hallazgos morfológicos en la H/E, junto a la situación clínica parece ser sensibles para sugerir un diagnóstico. El uso de protocolos diagnósticos de lecturas de las biopsias, junto con la correcta selección y valoración de un panel de IHQ nos ayudaría a la confirmación diagnóstica. Es importante constar con un buen material biopsico y con el conocimiento de las técnicas de imagen radiológica.

Anexamos diagrama de manejo diagnóstico y tratamiento de las lesiones nodulares (HNF, Adenoma hepático y HCC) según Guías de Práctica Clínicas de EASL- EORTC 2016.

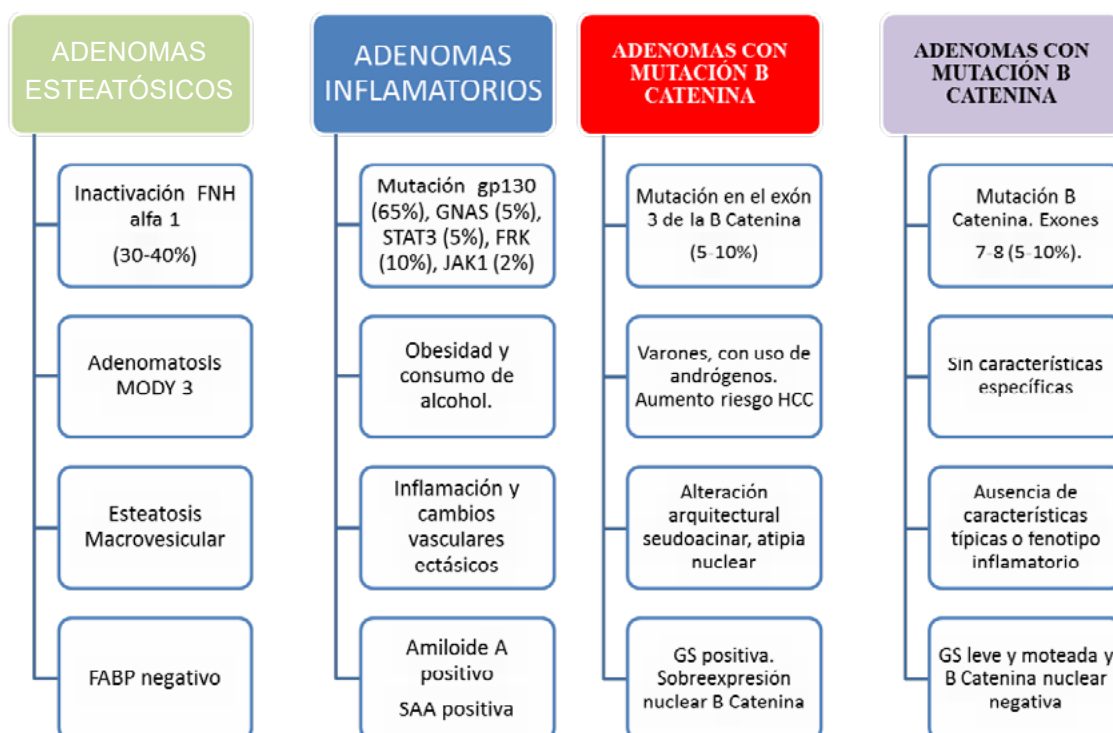
**TABLA 1: CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS TRES LESIONES NODULARES**

	<b>HNF</b>	<b>ADENOMA</b>	<b>HCC</b>
Características macroscópicas	Nodular. no encapsulado, bien circunscrito	De color marrón parecido al parénquima normal. No encapsulado. Puede tener hemorragia. Ausencia de necrosis	Lesión nodular con verdínica secundario a la colestasis, hemorragia y necrosis.
Nº de lesiones	Único y un 20% múltiples	Único o múltiples (adenomatosis)	Único o múltiple
Tamaño	Menos de 5 cm		
Características hepática no tumorales	Generalmente hígado no cirrótico	Hígado no cirrótico	90 % en hígados cirróticos
Características radiológicas	Cicatriz central con septos	Cambios grasos	Hipovascular en fase temprana, hipervascular generalmente



**TABLA 2: CARACTERÍSTICAS INMUNO-HISTOQUÍMICAS DE LAS TRES LESIONES NODULARES**

TÉCNICAS	HNF	ADENOMA HEPATOCELULAR	HCC
Fibras de reticulina	Intactas	Intactas	Fragmentada y ausente en muchos casos
Orceina	Positiva a nivel periseptal	No ayuda al diagnóstico	Positiva en HCC con marcados cambios colestásicos
Endotelización sinusoidal CD 34 (+)	negativo	Puede estar presente (+/-)	presente
Amilode A (positividad citoplasmática, ausente en hígado normal)	Negativo	Positivo en los adenomas telangiectásicos o inflamatorios	Negativo
FABP (positividad citoplasmática, presente en el hígado normal)	Positivo	Ausente en los adenomas con mutación FNH alfa 1	Positivo
Glutamin Sintetasa (positividad citoplasmática)	Mapeo perivenular normal	Positividad débil y focal en algunos adenomas. Intenso en adenomas con mutación B catenina	Positivo intenso en algunos HCC
Glypican 3 (positividad granular citoplasmática)	Negativo	Negativo	Fuertemente positivo Pde ser negativo en HCC bien diferenciados
HSP-70 (positividad nuclear)	Negativo	Negativo	Positividad nuclear principalmente en un 80% HCC tempranos
Alfa Feto proteína	Negativo	Negativo	Solo positivo en un 10 % de los HCC
HSP-70, GS y Glypican 3	No útil para diagnóstico	Negativo.	Positividad de más de 2 en un 50-60% de los casos
CK 7	Evidencia de proliferación nuclear y metaplasia colangiolar hepatocitos	Negativo	Evidencia de invasión estromal, con ausencia de proliferación ductular periférica.
CK AE1-3 y CAM 5/2	No son útiles para el diagnóstico diferencial de las tres lesiones. Son positivas en el hígado normal.		
Hepatocyte, CD 10 y CEAp	No son útiles para el diagnóstico diferencial de las tres lesiones. Son positivas en el hígado normal.		



**Fig. 1:** Resumen de las características moleculares, clínicas, histológicas e inmunohistoquímicas de los adenomas hepatocelulares.

El 50 % de los adenomas con mutación de la B Catenina, también muestran un fenotipo inflamatorio PCR (proteína C reactiva); GS (Glutamina Sintetasa), LFABP (proteína transportadora de ácidos grasos, SAA (Amiloide A en suero)

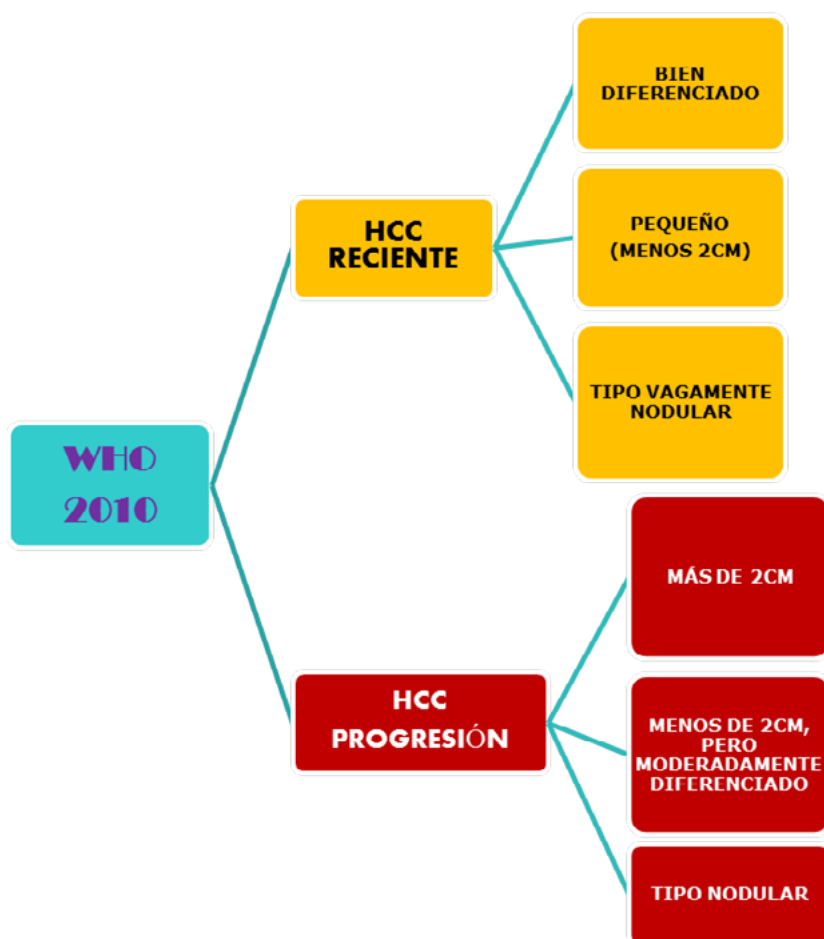


Fig. 2: Clasificación de OMS 2010. Carcinoma Hepatocelular.

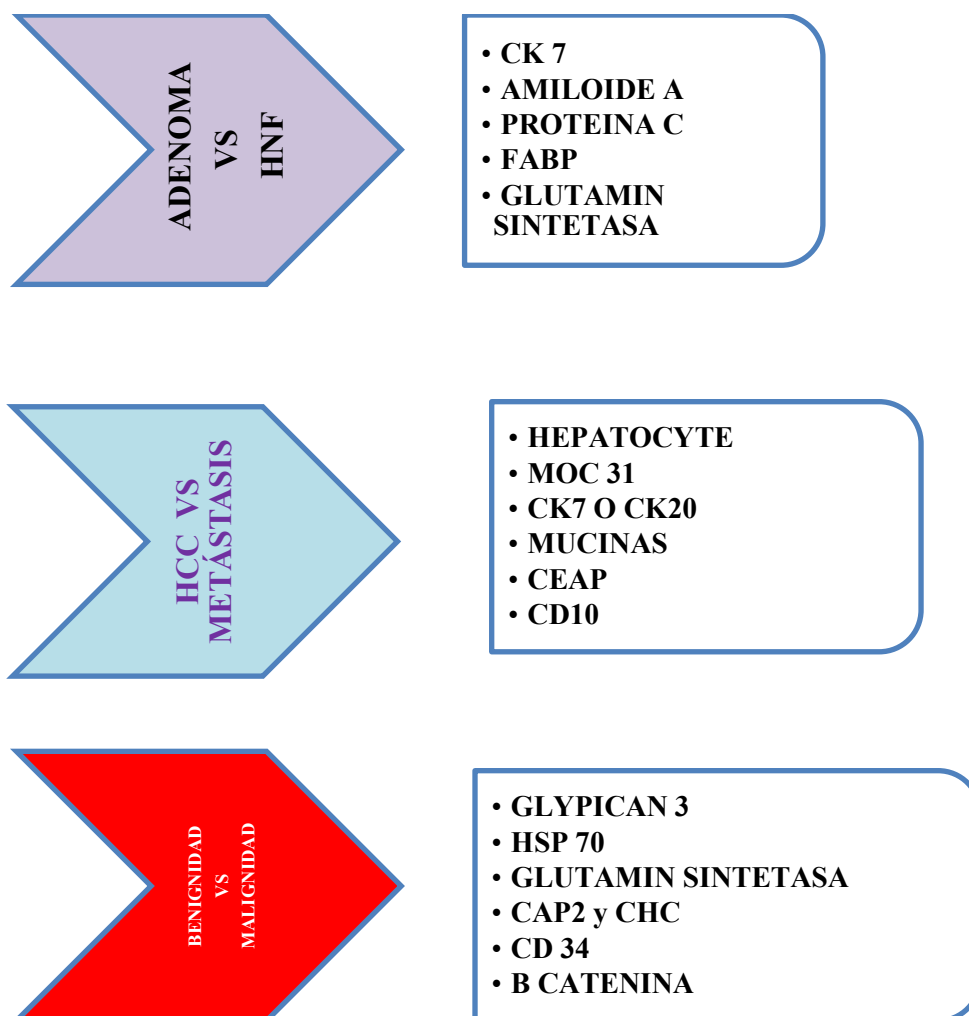
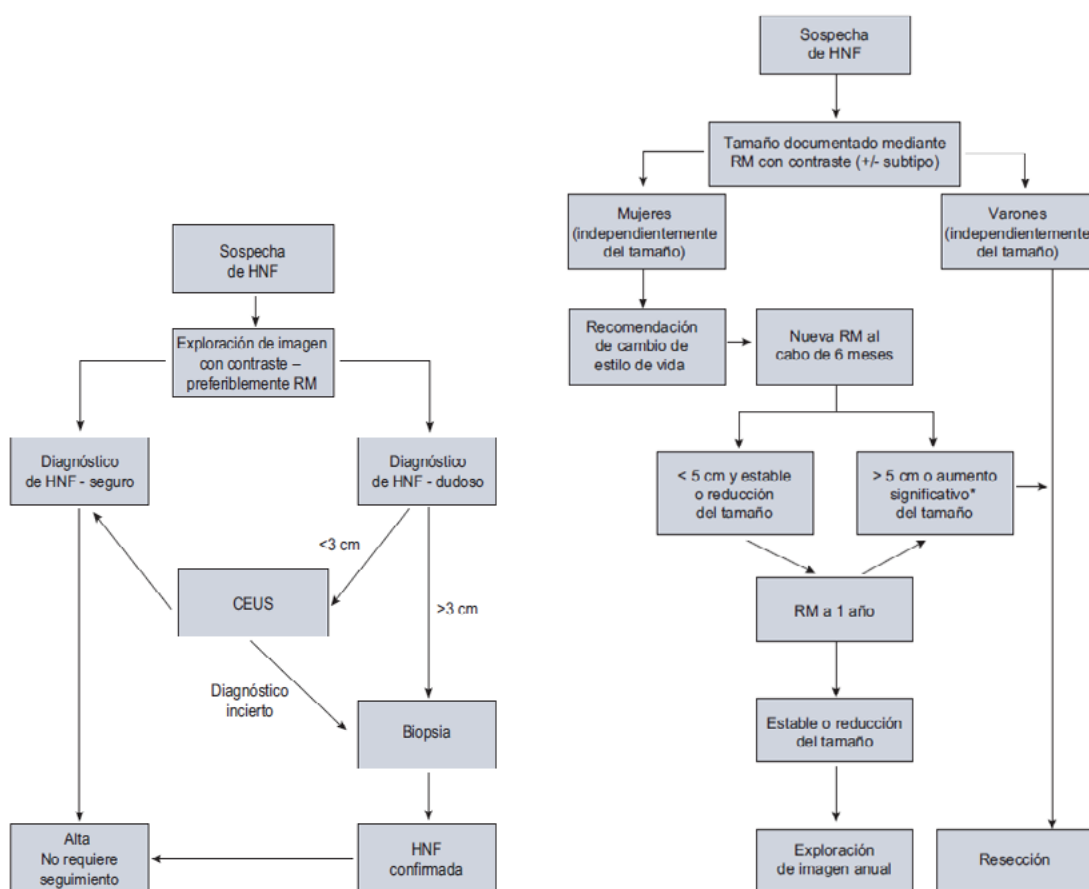


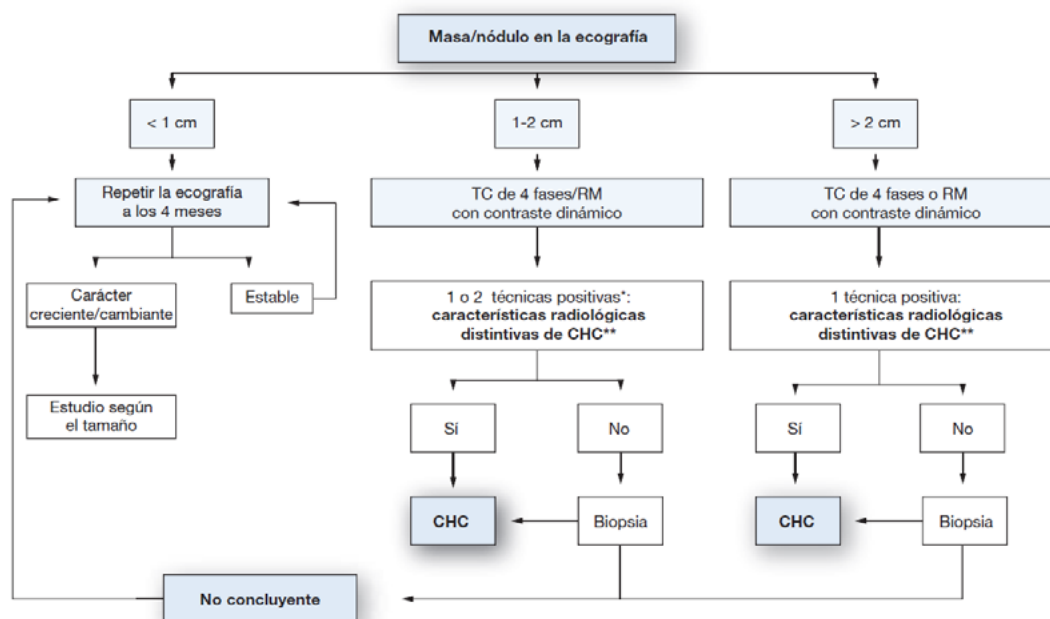
Fig. 3: Panel de IHQ que se puede usar para cada situación diagnóstica.



European Association for the Study of the Liver (EASL) \*Journal of Hepatology 2016 vol. 65 | 386–398

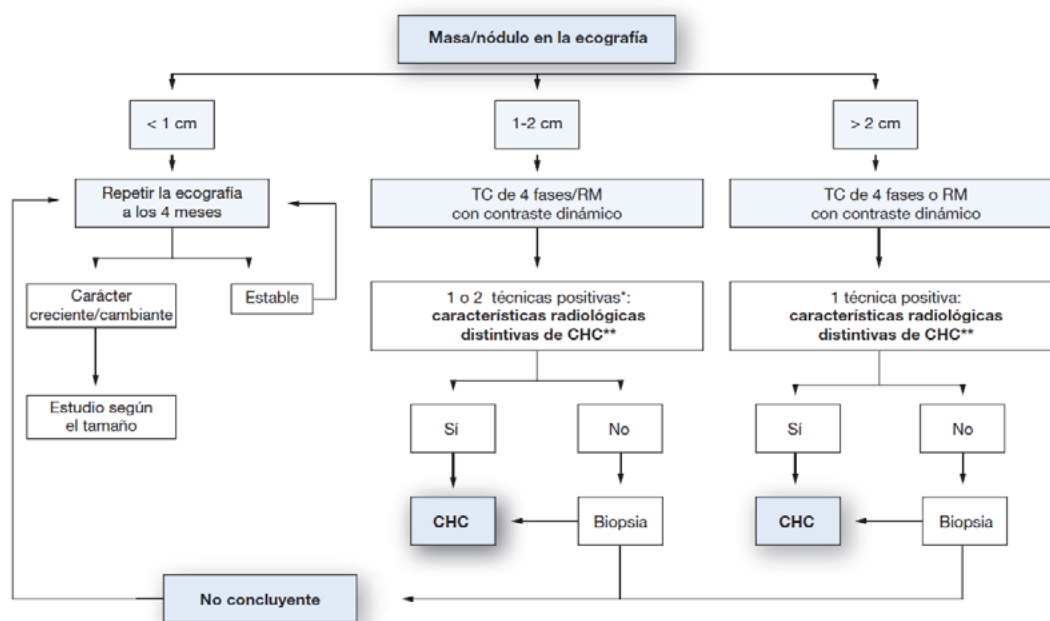
**Fig.4a:** Diagrama de flujo del manejo de la HNF. Las modalidades de diagnóstico por la imagen pueden incluir (ecografía, CEUS, TAC con contraste y RMN). Para las lesiones de > 3 cm la sensibilidad de la RMN es muy buena y para lesiones de < 3 cm se recomienda la CEUS. En caso de dudas, el paciente debe ser remitido a un centro especializado para la realización de biopsia o resección.

**Fig.4b:** Diagrama de flujo de manejo de un paciente con Adenoma hepático. Es necesaria la RM inicial para el diagnóstico y la caracterización del adenoma. En varones, la resección es el tratamiento inicial. En mujeres es apropiado un período de observación de 6 meses, después de cambio en el estilo de vida. La resección está indicada en lesiones de más de 5 cm o con cambio de tamaño en el tiempo. La biopsia se reserva en los casos en que el diagnóstico de adenoma es incierto y es preciso descartar HCC (aproximadamente 20%).



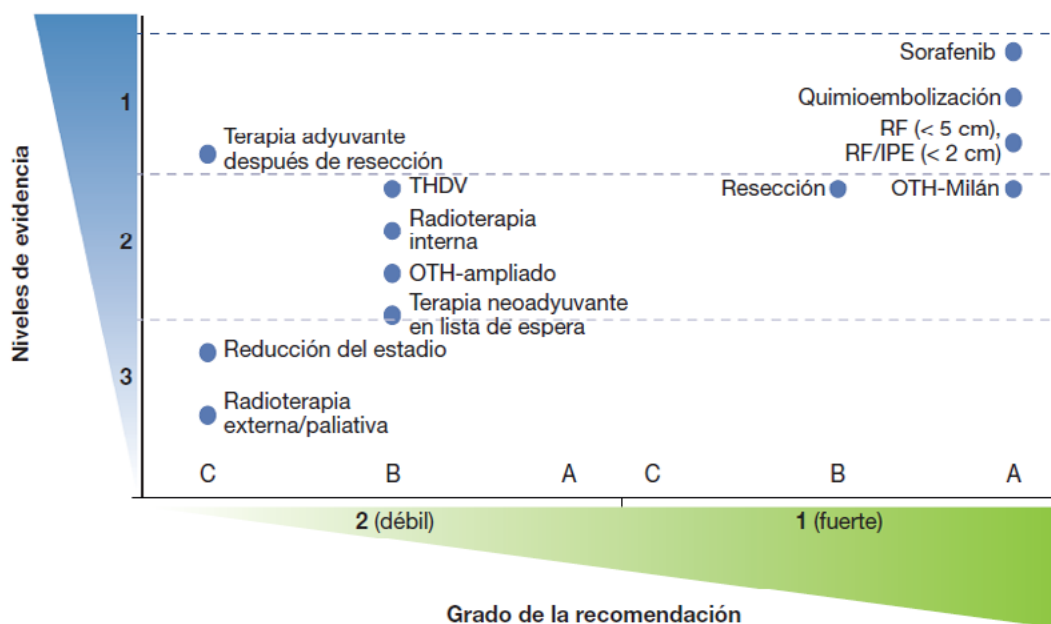
European Association for the Study of the Liver. European Organisation for Research and Treatment of Cancer. Journal of Hepatology 2012; vol. 56; 908-943

**Fig.5:** Algoritmo diagnóstico ante la sospecha de un nódulo con HCC. Características radiológicas distintivas de HCC (hipervascularización arterial y eliminación en fase venosa y tardía)



European Association for the Study of the Liver. European Organisation for Research and Treatment of Cancer. Journal of Hepatology 2012; vol. 56; 908-943

**Fig.6:** Sistema de estadaje BCLC actualizado y estrategia de tratamiento.



European Association for the Study of the Liver. European Organisation for Research and Treatment of Cancer. Journal of Hepatology 2012; vol. 56; 908–943

**Fig.7:** Representación de las recomendaciones de EASL–EORTC para el tratamiento según los niveles de evidencia (clasificación del NCI) y fuerza de la recomendación (sistema GRADE). RF, ablación por radiofrecuencia; IPE, inyección percutánea de etanol; OTH, ortotrasplante hepático; THDV, trasplante hepático de donante vivo.

**PROTOCOLO DE ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LAS BIOPSIAS DE LESIONES NODULARES BENIGNAS  
(Adenomas versus HNF).  
Hospital Universitario La Fe, Valencia**

**CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA**

- Tipo de muestra
- Proceder
- Localización de la lesión
- Número de lesiones
- Tipo histológico

**CAMBIOS MORFOLÓGICOS:**

- Espacios portas
- Cicatriz central
- Esteatosis macro-microvesicular
- Inflamación mononuclear
- Patrón pseudoglandular o acinar
- Dilatación sinusoidal y peliosis
- Reacción ductular
- Atipia nuclear
- Mitosis
- Colestasis
- Capilarización sinusoidal

**OTROS CAMBIOS:**

- Embolización linfática o vascular
- Necrosis
- Hemorragia

**PARENQUIMA NO LESIONAL:**

- Presencia de signos de hepatopatía crónica:

**TÉCNICAS DE HISTOQUIMIA:**

Fibras de reticulina (ruptura):

**TÉCNICAS DE INMUNOHISTOQUIMIA:**

- Amiloide
- FABP
- Glutamina Sintetasa
- B Catenina
- Otras (según la situación clínica)

**TÉCNICA MOLECULAR:**

- Mutación B Catenina
- Otras



## BIBLIOGRAFÍA:

1. Judith Pérez Rojas, María Juliana Guarín Corredor; María Josefa Artes Martínez; Francisco José Vera Sempere, Carmen Brisa Estelles; María Carmen Huart Peris; Soraya Hernández Girón. Clasificación inmunofenotípica de 3 casos de adenomas hepatocelulares. Diagnóstico diferencial con hiperplasia nodular focal. *Gastroenterología y Hepatología* 2013 jun-jul; 36(6):388-95.
2. Pérez Rojas, J; Guarín Corredor, M. j; Artes Martínez, M. J; Vera Sempere, F. J; Brisa Estelles, C.; Huart Peris, M. C. *et al.* Asociación obesidad e hiperplasia nodular focal (HNF) telangiectásica. Reevaluación de 24 casos. *Nutr. Clin. Diet. Hosp.* 2013; 33(1):73-78.
3. Kondo F, Fukusato T, Kudo M. Pathological diagnosis of benign hepatocellular nodular lesions based on the new World Health Organization classification. *Oncology*. 2014; 87 Suppl 1:37-49. Doi: 10.1159/000368144. Epub 2014 Nov 22.
4. Makhoulouf HR, Abdul-Al HM, Goodman ZD. Diagnosis of focal nodular hyperplasia of the liver by needle biopsy. *Hum Pathol*. 2005 Nov; 36(11):1210-6.
5. Bioulac-Sage P, Cubel G, Taouji S, Scoazec JY, Leteurtre E, Paradis V *et al.* Immunohistochemical markers on needle biopsies are helpful for the diagnosis of focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma subtypes. *Am J Surg Pathol*. 2012 Nov; 36(11):1691-9. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182653ece.
6. Bioulac-Sage P, Balabaud C, Zucman-Rossi J. Interest of immunohistochemistry for the diagnosis of benign hepatocellular tumors. *Ann Pathol*. 2010 Dec; 30(6):439-47. doi: 10.1016/j.annpat.2010.10.005. Epub 2010 Nov 27.
7. Hugh A. Edmondson, M.D., Brian Henderson Liver-Cell Adenomas Associated with Use of Oral Contraceptives. *N ENGL J MED* 1976.
8. Christopherson WM, Mays ET, Barrows GH: Liver tumours in young women: A clinical pathologic study of 201 cases in the Louisville Registry. In: *Progress in surgical pathology, Vol II*. New York: Masson; 1980:187-205.
9. Bioulac-Sage P, Laumonier H, Couchy G, et al: Hepatocellular adenoma management and phenotypic classification: the Bordeaux experience. *Hepatology* 2009; 50:481-489.
10. Dokmak S, Paradis V, Vilgrain V, et al: A single-center surgical experience of 122 patients with single and multiple hepatocellular adenomas. *Gastroenterology* 2009; 137:1698-1705.
11. Rooks JB, Ory HW, Ishak KG Epidemiology of hepatocellular adenoma. The role of oral contraceptive use. *JAMA*. 1979.
12. Lindgren A, Olsson R: Liver damage from low-dose oral contraceptives. *J Intern Med* 1993.
13. Wanless IR, Medline A: Role of oestrogens as promoters of hepatic neoplasia. *Lab Invest* 1982.
14. Porter LE, Van Thiel D, Eagon PK: Oestrogens and progestins as tumour inducers. *Semin Liv Dis* 1987.
15. Edmondson HA, Reynolds TB, Henderson B, Benton B: Regression of liver cell adenomas associated with oral contraceptives. *Ann Intern Med* 1977.

16. Buhler H, Pirovino M, Akovbiantz A, et al: Regression of liver cell adenoma. A follow-up study of three consecutive patients after discontinuation of oral contraceptive use. *Gastroenterology* 1982.
17. Bork K, Pitton M, Harten P, Koch P: Hepatocellular adenomas in patients taking danazol for hereditary angio- oedema. *Lancet* 1999.
18. Isela Velazquez and Blanche P. Alter. Androgens and Liver Tumors: Fanconi's Anemia and Non-Fanconi's Conditions. *American Journal of Hematology* 2004. 77:257–267.
19. Labrune P, Trioche P, Duvaltier I, et al: Hepatocellular adenomas in glycogen storage disease type I and type III. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997.
20. Alshak NS, Cocjin J, Podesta L, et al: Hepatocellular adenoma in glycogen storage disease type IV. *Arch Pathol Lab Med* 1994.
21. Maria del Carmen de Mingo Alemany, Francisca Moreno Macian, Sara Leon Carinena, Begona Polo Miquel, Judith Perez Rojas, Juan Antonio Ceron Perez *et al*. Liver Adenomatosis and Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) Type 3 Due to HNF1A Mutation. *Journal of Endocrinology and Metabolis* June 2014, pages 81-85.
22. Foster JH, Berman MM: The malignant transformation of liver cell adenomas. *Arch Surg* 1994; 129:712-717.
23. Micchelli ST, Vivekanandan P, Boitnott JK, *et al*: Malignant transformation of hepatic adenomas. *Mod Pathol* 2008; 21:491-497.
24. Veteläinen R, Erdogan D, de Graaf W, et al: Liver adenomatosis: re-evaluation of aetiology and management. *Liver Int* 2008; 28:499-508.
25. Hasan N, Coutts M, Portmann B: Pigmented liver cell adenoma in two male patients. *Am J Surg Pathol* 2000; 24:1429-1432
26. Libbrecht L, De Vos R, Cassiman D, et al: Hepatic progenitor cells in hepatocellular adenomas. *Am J Surg Pathol* 2001; 25:1388-1396
27. Paradis V, Champault A, Ronot M, et al: Telangiectatic adenoma: an entity associated with increased body mass index and inflammation. *Hepatology* 2007; 46:140-146.
28. Wee A. Fine needle aspiration biopsy of malignant mass lesions in the liver: a revisit of diagnostic profiles and challenges. *J Gastrointest Oncol*. 2013 Mar;4(1):5-7. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.064.
29. Wee A. Fine-needle aspiration biopsy of hepatocellular carcinoma and related hepatocellular nodular lesions in cirrhosis: controversies, challenges, and expectations. *Patholog Res Int*. 2011; 2011:587936. doi: 10.4061/2011/587936. Epub 2011 Jun 30.
30. Wee A. Fine needle aspiration biopsy of the liver: Algorithmic approach and current issues in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cytojournal*. 2005 Jun 8; 2:7.
31. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, ed. World Health Organization Classification of Tumours. WHO Classification of Tumours of the Digestive System, Lyon: IARC Press; 2010.

32. Jakate S, Yabes A, Giusto D, Naini B, Lassman C, Yeh MM, Ferrell LD. Diffuse cirrhosis-like hepatocellular carcinoma: a clinically and radiographically undetected variant mimicking cirrhosis. *Am J Surg Pathol*. 2010 Jul; 34(7):935-41. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181ddf52f.
33. Di Tommaso L, Destro A, Fabbris V, Spagnuolo G, Laura Fracanzani A, Fargion S. Diagnostic accuracy of clathrin heavy chain staining in a marker panel for the diagnosis of small hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2011 May; 53(5):1549-57. doi: 10.1002/hep.24218.
34. Sakamoto M. Early HCC: diagnosis and molecular markers. *J Gastroenterol*. 2009; 44 Suppl 19:108-11. doi: 10.1007/s00535-008-2245-y. Epub 2009 Jan 16.
35. Ojima H, Masugi Y, Tsujikawa H, Emoto K, Fujii-Nishimura Y, Hatano M. Early hepatocellular carcinoma with high-grade atypia in small vaguely nodular lesions. *Cancer Sci*. 2016 Apr; 107(4):543-50. doi: 10.1111/cas.12893. Epub 2016 Mar 18.



# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA OCULAR DE LA SEAP

*Coordinador: José Carlos López ([jclopez@ioba.med.uva.es](mailto:jclopez@ioba.med.uva.es))*



# Melanoma uveal

José Carlos López<sup>1</sup>, Juan Cuevas Álvarez<sup>2</sup>

1 Laboratorio de Anatomía Patológica Ocular. Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de Valladolid.

2 Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela.

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

El melanoma uveal es una neoplasia maligna que tiene su origen en los melanocitos del iris, cuerpo ciliar o coroides. Los melanomas con afectación de cuerpo ciliar y coroides representan el tumor intraocular primario maligno más frecuente en los adultos. En Estados Unidos, la tasa de incidencia ajustada por edad del melanoma uveal es de 6-7 casos nuevos por millón de habitantes y año. La edad media de estos pacientes al diagnóstico es de aproximadamente 55 años. Se trata además de un tumor que afecta predominantemente a individuos de raza blanca. A pesar de los avances en el tratamiento, la tasa de supervivencia apenas ha variado en los últimos 30 años. Es un tumor con una gran tendencia a producir metástasis, especialmente hepáticas (en más del 90% de los casos) aunque también se pueden encontrar metástasis pulmonares y óseas.

## II. ESTUDIO MACROSCÓPICO

### 1. Fijación

El tiempo mínimo de fijación recomendable para un ojo que contiene un tumor intraocular es de 48 horas. Se necesita un volumen adecuado de formol tamponado al 10% para que el globo ocular quede completamente sumergido. No se recomienda la inyección de líquido fijador dentro del globo ocular ni la realización de incisiones en la esclera para que penetre el formol.

### 2. Orientación

En anatomía ocular se utilizan los términos temporal y nasal como sinónimos de lateral y medial respectivamente.

La orientación se puede realizar identificando las inserciones de los músculos extraoculares. Es muy útil tener en cuenta la posición del músculo oblicuo inferior con respecto al nervio óptico. El músculo oblicuo inferior se inserta en la esclera lateralmente (temporal) al nervio óptico y sus fibras descienden hacia la zona inferior y nasal desde esta inserción.

Las arterias ciliares largas posteriores normalmente aparecen como una línea en la esclera de coloración azul-grisácea a ambos lados del nervio óptico y marcan el meridiano horizontal del ojo.

### 3. Tamaño del tumor

*Después de la fijación, tanto el diámetro como la altura del tumor pueden ser menores que antes de fijarse la muestra debido a la retracción que se produce en el tejido.*

El tamaño tumoral tiene importancia en el pronóstico de estos pacientes.

Según el *Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS)* se distinguen 3 categorías:

**Tumores de pequeño tamaño:** Presentan un pronóstico más favorable.

- Altura entre 1,5 y 2,4 mm con un diámetro de la base tumoral mayor de 5 mm y menor de 16 mm.

**Tumores de mediano tamaño:**

- Altura mayor de 2,5 mm y menor o igual a 10 mm. Diámetro de la base tumoral menor o igual a 16 mm de diámetro.

**Tumores de gran tamaño:**

- Altura mayor o igual a 10 mm y base tumoral mayor de 16 mm de diámetro.
- Altura mayor de 8 mm con afectación del nervio óptico.

#### 4. Tallado

Antes de seccionar el globo ocular se debe realizar una transiluminación.

Este procedimiento se basa en aplicar una fuente de luz brillante a través de una sonda colocada en la córnea, para que la luz pase a través de la pupila. Así el tumor va a proyectar una sombra y se puede delimitar y marcar con tinta indeleble el contorno del mismo.

Para evitar una posible contaminación por el tumor, las venas vorticosas y el margen quirúrgico correspondiente al nervio óptico se muestrean antes de seccionar el globo ocular.

Las venas vorticosas se localizan normalmente a unos 5-10 mm del nervio óptico, a las 2, 5, 7 y 10 horas si consideramos la parte posterior del globo ocular como la esfera de un reloj. Sin embargo, suele haber una considerable variación en el número y localización de las venas vorticosas. Estas venas se deben incluir longitudinalmente para así aumentar las posibilidades de detectar la invasión vascular por el melanoma.

Normalmente se realiza un corte del globo ocular en el plano horizontal o vertical incluyendo la pupila y el nervio óptico en este corte. Si no es posible incluir la masa tumoral con la sección en horizontal o vertical, se puede realizar un corte en un plano oblicuo que incluya el tumor, la pupila y el nervio óptico.

En condiciones normales se obtienen 5 bloques:

- Margen quirúrgico del nervio óptico.
- Venas vorticosas.
- Bloque tumoral principal incluyendo pupila y nervio óptico.
- Las 2 calotas.

### III. ESTUDIO MICROSCÓPICO

#### 1. Tipo histológico

La clasificación modificada de Callender, propuesta por McLean, que divide los melanomas en fusocelulares, mixtos y epitelioides, tiene significado pronóstico en los tumores de coroides y cuerpo ciliar pero no en los de iris. Estos últimos normalmente presentan un curso benigno.

- Las células fusiformes de tipo A presentan un núcleo ovalado con una hendidura longitudinal característica y cromatina fina. Este tipo de células se consideran benignas y se observan en los melanomas que se desarrollan a partir de un nevus.
- En cambio, las células fusiformes de tipo B presentan un núcleo de mayor tamaño con cromatina gruesa y un nucleolo eosinófilo evidente. Es el tipo de célula más común en el melanoma de coroides.
- Las células epitelioides son poligonales, presentan un marcado pleomorfismo nuclear, límites nucleares irregulares, cromatina gruesa, nucleolo eosinófilo evidente y bordes citoplasmáticos bien definidos.

En cuanto al pronóstico, no hay diferencia entre las células fusiformes de tipo A y B, por lo que es aceptable clasificar un melanoma simplemente como fusocelular.



El melanoma fusocelular presenta un mejor pronóstico si lo comparamos con los melanomas mixtos y epitelioides. El pronóstico empeora cuando aumenta el contenido epitelioides, por tanto, los melanomas epitelioides presentan el peor pronóstico de los 3 tipos histológicos.

## 2. Estadaje pT

Por convención del *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* y de la *Union for International Cancer Control (UICC)* "T" se refiere al tumor primario que no ha sido tratado previamente. La letra "p" hace referencia a la clasificación patológica.

El estadiaje patológico se realiza después de la resección quirúrgica del tumor primario y este estadiaje depende de la documentación obtenida mediante el estudio anatomopatológico de la extensión anatómica del tumor.

- El prefijo "y" aparece en aquellos casos en los que se ha utilizado tratamiento preoperatorio, ya sea quimioterapia neoadyuvante, radioterapia o ambas: ypT.
- En casos especiales el sufijo "m" aparece entre paréntesis e indica la presencia de múltiples tumores primarios en una única localización: pT(m).
- El prefijo "r" indica tumor recurrente que se ha documentado tras un intervalo libre de enfermedad: rTNM.

## 3. Patología molecular

El factor más comúnmente asociado con la aparición de metástasis es la monosomía del cromosoma 3 (pérdida completa de uno de los dos cromosomas del par). Por tanto, se recomienda su detección mediante FISH en todos los melanomas de coroides y cuerpo ciliar.

Se ha descrito también que la pérdida del cromosoma 1p, ganancia de 6p, pérdida de 6q, pérdida de 8p y ganancia de 8q se asocian con la presencia de metástasis por melanoma.

## IV. INFORME ANATOMOPATOLÓGICO

En el informe deben aparecer los siguientes datos:

### Procedimiento:

- Resección local.
- Eucleación.
- Exenteración limitada.
- Exenteración completa.

### Lateralidad:

- Derecho.
- Izquierdo.

### Localización del tumor:

- Cuadrante superior y temporal.
- Cuadrante superior y nasal.
- Cuadrante inferior y temporal.
- Cuadrante inferior y nasal.

### Tamaño del tumor a la sección:

- Diámetro de la base en mm.
- Altura en mm.

### Afectación de otras estructuras oculares:

- Esclera.
- Venas vorticosas.
- Papila.
- Vítreo.

- Coroides.
- Cuerpo ciliar.
- Iris.
- Cristalino.
- Cámara anterior.
- Extensión extraescleral anterior.
- Extensión extraescleral posterior.
- Ángulo/canal de Schlemm.
- Nervio óptico.
- Retina.
- Córnea.

**Patrón de crecimiento:**

- Masa sólida.
- En forma de cúpula.
- En forma de champiñón.
- Difuso, plano.
- Difuso, en anillo alrededor del cuerpo ciliar: el melanoma uveal difuso se define como un tumor que tiene una altura menor o igual al 20% del diámetro de la base tumoral. Es un tumor que crece a lo largo del plano corioideo con una pequeña elevación focal. El melanoma en anillo afecta al ángulo iridocorneal y presenta un crecimiento circunferencial extenso a lo largo de la malla trabecular y estructuras adyacentes. Estos 2 patrones se asocian con un peor pronóstico y presentan una incidencia mayor de metástasis en comparación con un tumor de crecimiento sólido.

**Tipo histológico:**

- Melanoma fusocelular (contiene más del 90% de células fusiformes).
- Melanoma mixto (más del 10% de células epitelioideas y menos del 90% de células fusiformes).
- Melanoma epitelioide (presenta más del 90% de células epitelioideas).

**Extensión tumoral microscópica:**

**Afectación escleral:**

- Ninguna.
- Extraescleral.
- Intraescleral.
- No se puede determinar.

La extensión extraocular implica un peor pronóstico. Puede ocurrir directamente por infiltración del colágeno de la esclera, por invasión perineural, perivascular o intravascular con afectación de las venas vorticosas.

La invasión de las venas vorticosas se asocia con tumores de gran tamaño, con afectación de coroides y con melanomas que presentan alteraciones moleculares adversas.

**Márgenes quirúrgicos:**

- Sin afectación tumoral.
- Extensión extraescleral (en enucleaciones).
- Afectación de otros márgenes.

**Estadaje patológico: TUMOR PRIMARIO (pT):**

**a) Iris:**

Los melanomas de iris se originan y se localizan predominantemente en esta región de la úvea. Si menos de la mitad del volumen tumoral se localiza en el iris, el tumor podría haberse originado en cuerpo ciliar, por lo que esto debería tenerse en cuenta para clasificar correctamente al tumor.

- pT1: Tumor limitado al iris.
  - pT1a: Tumor con un tamaño menor o igual a 3 horas.
  - pT1b: Tumor con un tamaño mayor de 3 horas.
  - pT1c: Tumor limitado al iris con glaucoma secundario.

- pT2: Tumor que confluye o se extiende hacia cuerpo ciliar, coroides o ambos.
  - pT2a: Tumor que confluye o se extiende hacia cuerpo ciliar, coroides o ambos con glaucoma secundario.
- pT3: Tumor que confluye o se extiende hacia cuerpo ciliar, coroides o ambos con extensión escleral
  - pT3a: Tumor que confluye o se extiende hacia cuerpo ciliar, coroides o ambos con extensión escleral y con glaucoma secundario.
- pT4: Tumor con extensión extraescleral:
  - pT4a: Tumor menor o igual a 5 mm de diámetro.
  - pT4b: Tumor mayor de 5 mm de diámetro.

#### b) Coroides y cuerpo ciliar:

Los melanomas primarios de cuerpo ciliar y de coroides se clasifican en función del tamaño tumoral en las 4 categorías que se muestran en la siguiente tabla:

#### Altura del tumor en mm

> 15					4	4	4
12,1-15,0				3	3	4	4
9,1-12,0		3	3	3	3	3	4
6,1-9,0	2	2	2	2	3	3	4
3,1-6,0	1	1	1	2	2	3	4
≤ a 3,0	1	1	1	1	2	2	4
	≤ 3,0	3,1-6,0	6,1-9,0	9,1-12,0	12,1-15,0	15,1-18,0	> 18

#### Diámetro mayor de la base del tumor en mm

- pT1: Tumor categoría 1:
  - pT1a: Tumor categoría 1 sin afectación de cuerpo ciliar ni extensión extraocular.
  - pT1b: Tumor categoría 1 con afectación de cuerpo ciliar.
  - pT1c: Tumor categoría 1 sin afectación de cuerpo ciliar pero con extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
  - pT1d: Tumor categoría 1 con afectación de cuerpo ciliar y extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
- pT2: Tumor categoría 2:
  - pT2a: Tumor categoría 2 sin afectación de cuerpo ciliar ni extensión extraocular.
  - pT2b: Tumor categoría 2 con afectación de cuerpo ciliar.
  - pT2c: Tumor categoría 2 sin afectación de cuerpo ciliar pero con extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
  - pT2d: Tumor categoría 2 con afectación de cuerpo ciliar y extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
- pT3: Tumor categoría 3:
  - pT3a: Tumor categoría 3 sin afectación de cuerpo ciliar ni extensión extraocular.
  - pT3b: Tumor categoría 3 con afectación de cuerpo ciliar.
  - pT3c: Tumor categoría 3 sin afectación de cuerpo ciliar pero con extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
  - pT3d: Tumor categoría 3 con afectación de cuerpo ciliar y extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
- pT4: Tumor categoría 4:
  - pT4a: Tumor categoría 4 sin afectación de cuerpo ciliar ni extensión extraocular.
  - pT4b: Tumor categoría 4 con afectación de cuerpo ciliar.

- pT4c: Tumor categoría 4 sin afectación de cuerpo ciliar pero con extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
- pT4d: Tumor categoría 4 con afectación de cuerpo ciliar y extensión extraocular menor o igual a 5 mm de diámetro.
- pT4e: Cualquier categoría en función del tamaño tumoral y extensión extraocular mayor de 5 mm de diámetro.

**Otros hallazgos histológicos que tienen un significado pronóstico en el melanoma de coroides y cuerpo ciliar son los siguientes:**

- Patrón de crecimiento: **Los melanomas difusos de coroides y los melanomas en anillo del cuerpo ciliar tienen un peor pronóstico.**
- Número de mitosis en 10 campos de gran aumento (40x).
- Grado de pigmentación.
- Presencia de abundantes linfocitos intratumorales.
- Invasión vascular: tanto en vasos sanguíneos normales como tumorales.
- Presencia de necrosis tumoral.
- Afectación del nervio óptico.
- Patrones vasculares: En cuanto al patrón de la matriz extracelular, se han descrito varios patrones morfológicos tras teñir el tumor con PAS. Un asa vascular cerrada ("*closed vascular loops*" en inglés) es un espacio vascular de gran tamaño ocupado por células tumorales. Una red vascular ("*vascular network*") está compuesta por al menos 3 asas vasculares cerradas que están en contacto unas con otras. Es importante tener en cuenta que la presencia de estas redes vasculares ("*vascular networks*") se asocia de manera significativa con la aparición de metástasis.

#### **Bibliografía:**

1. Grossniklaus HE, Finger PT, Harbour JW, Kivëla T. College of American Pathologists. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Uveal Melanoma. 2016.
2. Malignant melanoma of the uvea. In: Edge SD, Byrd DR, Carducci MA, Compton CC, eds. AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer; 2010.
3. McLean IW. Uveal nevi and malignant melanomas. In: Spencer WH, ed. Ophthalmic Pathology. An Atlas and Textbook. 4th ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1996: 2121-2217.
4. Folberg R, Rummelt V, Parys-Van Ginderdeuren R, Hwang T, Woolson RF, Pe'er J *et al*. The prognostic value of tumor blood vessel morphology in primary uveal melanoma. *Ophthalmology* 1993; 100: 1389-1398.

# Retinoblastoma

José Carlos López<sup>1</sup>, Juan Cuevas Álvarez<sup>2</sup>

1 Laboratorio de Anatomía Patológica Ocular. Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de Valladolid.

2 Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela.

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

El retinoblastoma es el tumor ocular primario más frecuente en la edad infantil. Presenta una incidencia de 7.000 a 8.000 casos nuevos al año en todo el mundo y se estima que la incidencia anual es de 3,5 casos por millón en niños menores de 15 años y de 11,8 por millón en niños menores de 5 años. Más del 90% de los casos se diagnostican antes de los 5 años de edad.

El locus del gen del retinoblastoma (*RB1*) se sitúa en la banda 4 de la región 1 del brazo largo del cromosoma 13 (13q14.2) y es el primer gen supresor tumoral descrito, el cual se aisló por primera vez en 1986. La neoplasia se desarrolla cuando se produce una inactivación bialélica o una pérdida de este gen.

En 1926 la *American Ophthalmological Society* adoptó el término retinoblastoma para designar a los tumores compuestos por células retinianas embrionarias.

La célula de origen del retinoblastoma no se conoce con certeza. Los hallazgos de los estudios más recientes indican que derivaría de células precursoras de los conos.

## II. ESTUDIO MACROSCÓPICO

### 1. Obtención de tejido tumoral en fresco para estudios genéticos:

En la realización de estudios genéticos para la detección de mutaciones del gen *RB1* se recomienda la utilización de material tumoral obtenido en fresco.

En primer lugar se debe retirar el nervio óptico antes de abrir el globo ocular para evitar la contaminación accidental por células tumorales. En el quirófano se marca con tinta indeleble el margen quirúrgico correspondiente al nervio óptico, se hace un corte a unos 2 mm de distancia del globo ocular y se introduce en un frasco que contenga formol tamponado al 10%.

Para obtener la muestra se abre una pequeña ventana esclerocoroidea adyacente al tumor próxima al ecuador del globo con un trépano corneal de 6 a 8 mm de diámetro. También se puede utilizar una cuchilla para realizar un corte en la esclera y el tejido tumoral se recoge con una pinza y se corta con unas tijeras. Posteriormente se sutura la esclera para que se mantenga la estructura esférica del ojo y se deposita en otro recipiente que contenga formol tamponado al 10% para su fijación durante 48 horas.

### 2. Fijación:

El tiempo mínimo de fijación recomendable para un ojo que contiene un tumor intraocular es de 48 horas. Se necesita un volumen adecuado de formol tamponado al 10% para que el globo ocular quede

completamente sumergido. No se recomienda la inyección de líquido fijador dentro del globo ocular ni la realización de incisiones en la esclera para que penetre el formol.

### 3. Orientación:

En anatomía ocular se utilizan los términos temporal y nasal como sinónimos de lateral y medial respectivamente.

La orientación se puede realizar identificando las inserciones de los músculos extraoculares. Es muy útil tener en cuenta la posición del músculo oblicuo inferior con respecto al nervio óptico. El músculo oblicuo inferior se inserta en la esclera lateralmente (temporal) al nervio óptico y sus fibras descienden hacia la zona inferior y nasal desde esta inserción.

Las arterias ciliares largas posteriores normalmente aparecen como una línea en la esclera de coloración azul-grisácea a ambos lados del nervio óptico y marcan el meridiano horizontal del ojo.

### 4. Descripción macroscópica y tallado:

Si no se ha obtenido tejido tumoral en fresco, lo primero que se debe realizar es la sección del nervio óptico, cortándolo aproximadamente a 2 mm de distancia de la esclera. Esta sección se incluye por separado en un cassette. Hay que tener en cuenta que cuando se haga el bloque de parafina debe incluirse este fragmento con la punta hacia abajo para así empezar a cortar el bloque por el margen quirúrgico.

Después de efectuar la transiluminación del globo ocular, se marca el contorno del tumor con un marcador con tinta indeleble. A continuación se procede a la realización del corte del globo ocular, en una sección que se extiende desde la pupila hasta el nervio óptico para que así aparezcan todas las partes del mismo (la cabeza del nervio óptico, la lámina cribosa y la porción postlaminar) y poder evaluar la invasión tumoral del nervio óptico. Este plano de corte suele ser horizontal o vertical y debe incluir el diámetro mayor del tumor, que previamente hemos identificado mediante transiluminación. Hay que tener en cuenta que el retinoblastoma es un tumor muy friable. Posteriormente se realizarán mediante el microtomo cortes de 5 micras de grosor cada 100-150 micras para obtener un total de 10 a 20 cortes.

Se recomienda hacer cortes seriados (*breadloafing* en inglés) de ambas calotas que se incluirán de canto en un cassette por calota para así poder evaluar mejor el grado de invasión coroidea. En general es suficiente la obtención de 3 niveles por cada bloque.

En total se procesarán 4 cassettes: el margen quirúrgico correspondiente al nervio óptico, la sección central del globo ocular (desde la pupila hasta el nervio óptico) y las 2 calotas.

## III. ESTUDIO MICROSCÓPICO

El examen histológico revela que las células tumorales son células primitivas indiferenciadas que surgen de las capas nucleares de la retina. Las células presentan un núcleo basófilo predominante, ovalado o redondeado, con cromatina finamente granular y ausencia de nucleolos y un citoplasma escaso. Las figuras de mitosis suelen ser muy numerosas.

La tasa de crecimiento del tumor está limitada por su capacidad para inducir la formación de nuevos vasos, por lo que es frecuente que aparezcan extensas áreas con necrosis por coagulación. Las células tumorales tienen una tasa de crecimiento mucho mayor de la que pueden soportar los vasos sanguíneos que nutren al tumor. Especialmente en tumores de gran tamaño se observan "manguitos" de células malignas (conocidos como *vascular sheaths* en inglés) alrededor de vasos sanguíneos con dilatación de su luz. Dentro de las áreas de necrosis también aparecen con frecuencia focos de calcificación distrófica. También se observa una tinción basófila alrededor de la pared de los vasos sanguíneos que se atribuye al depósito de DNA liberado por las células tumorales con necrosis.

El grado de diferenciación se basa en la presencia y tipo de rosetas. Las rosetas de Homer Wright son similares a las que aparecen en los neuroblastomas y meduloblastomas, por lo que son menos específicas. La

formación de las rosetas de Flexner-Wintersteiner es muy característica de los retinoblastomas y su presencia se considera un signo de diferenciación del tumor.

Existen otro tipo de estructuras conocidas como *fleurettes*. Mediante estudios de microscopía electrónica se ha comprobado que contienen estructuras similares a los conos retinianos. De hecho, las proyecciones eosinófilas contienen un gran número de mitocondrias y recuerdan a los segmentos internos de los conos. Por tanto, las *fleurettes* se consideran focos de diferenciación hacia fotorreceptores.

Existe además una variante benigna del retinoblastoma conocida como retinocitoma o retinoma. En esta variante las células presentan núcleos más pequeños y menos hipercromáticos con un citoplasma abundante. No se observa necrosis y las figuras de mitosis suelen estar ausentes.

#### **Hallazgos histológicos con significado pronóstico:**

La mayoría de los retinoblastomas presentan un crecimiento invasivo y progresivo. Normalmente se extienden invadiendo el nervio óptico y el grado de invasión del nervio óptico tiene una gran importancia en el pronóstico de los pacientes afectados por este tumor, especialmente si existe invasión del margen quirúrgico.

Se consideran factores histopatológicos de alto riesgo la invasión del nervio óptico más allá de la lámina cribosa, la invasión coroidea, la infiltración de la esclera y la invasión del segmento anterior. La presencia de estos factores se asocia con un riesgo aumentado de recurrencia local y de aparición de metástasis a distancia.

Recientemente se ha demostrado que, en ausencia de estos factores histopatológicos de alto riesgo, la presencia de anaplasia severa en retinoblastomas también es un factor de riesgo adicional para el desarrollo de metástasis a distancia.

#### **IV. INFORME ANATOMOPATOLÓGICO**

En el informe deben aparecer los siguientes datos:

##### **Procedimiento:**

- Eucleación
- Exenteración parcial.
- Exenteración completa.

##### **Lateralidad:**

- Derecho.
- Izquierdo.

##### **Tamaño de la pieza:**

- En enucleación:
  - Diámetro anteroposterior: en mm.
  - Diámetro horizontal: en mm.
  - Diámetro vertical: en mm.
  - Longitud del nervio óptico: en mm.
  - Diámetro del nervio óptico: en mm.
- En exenteración:
  - Diámetro mayor: en cm.
  - Medidas adicionales: en cm.

##### **Localización del tumor:**

- Cuadrante superior y temporal.
- Cuadrante superior y nasal.
- Cuadrante inferior y temporal
- Cuadrante inferior y nasal.
- Otra.

**Tamaño del tumor a la sección:**

- Base: en mm.
- Altura: en mm.

**Afectación de otras estructuras oculares:**

- Córnea.
- Cámara anterior.
- Iris.
- Ángulo.
- Cristalino.
- Cuerpo ciliar.
- Vítreo.
- Desprendimiento de retina.
- Papila.
- Coroides: Afectación mínima: Nido tumoral sólido que mide menos de 3 mm de diámetro máximo (de longitud o grosor).
- Coroides: Afectación masiva: Nido tumoral sólido que mide más de 3 mm de diámetro máximo (de longitud o grosor).
- Esclera.
- Venas vorticosas.
- Órbita.

**Patrón de crecimiento:**

- Endofítico: El tumor crece desde la superficie interna de la retina hacia la cavidad vítrea.
- Exofítico: Crecimiento del tumor hacia la superficie externa de la retina en el espacio subretiniano hacia la coroides.
- Mixto: Se observa una mezcla de ambos patrones, endo y exofítico.
- Difuso: El tumor ocupa de manera difusa la práctica totalidad de la retina sin apenas engrosarla.

**Grado de invasión del nervio óptico:**

- Ninguno.
- Anterior a la lámina cribosa.
- Con afectación de la lámina cribosa.
- Posterior a la lámina cribosa pero sin alcanzar el margen quirúrgico de resección.
- Afectación completa del margen quirúrgico correspondiente al nervio óptico.

**Características histológicas:**

- Tumor indiferenciado.
- Tumor diferenciado:
  - Presencia de rosetas de Homer Wright.
  - Presencia de rosetas de Flexner-Wintersteiner.
  - Presencia de *fleurettes*.
- Tumor necrosado por completo.

**Márgenes quirúrgicos:**

- Sin afectación tumoral.
- Afectación del margen quirúrgico de resección del nervio óptico.
- Extensión extraescleral (en enucleaciones).
- Afectación de otros márgenes.
- No se pueden valorar.

**Estadaje patológico: Tumor primario (pT):**

- pT1: Tumor limitado al ojo sin invasión del nervio óptico o coroidea
- pT2: Tumor con mínima invasión del nervio óptico y/o invasión coroidea



- pT2a: Tumor que invade superficialmente la cabeza del nervio óptico pero no se extiende más allá de la lámina cribosa o tumor que presenta invasión coroidea focal
- pT2b: Tumor que invade superficialmente la cabeza del nervio óptico pero no se extiende más allá de la lámina cribosa y presenta invasión coroidea focal
- pT3: Tumor con invasión significativa del nervio óptico y/o invasión coroidea
  - pT3a: Tumor que invade el nervio óptico más allá de la lámina cribosa pero que no alcanza el margen de resección quirúrgica o tumor que presenta una invasión coroidea extensa
  - pT3b: Tumor que invade el nervio óptico más allá de la lámina cribosa pero que no alcanza el margen de resección quirúrgica y que presenta una invasión coroidea extensa
- pT4: Tumor que invade el nervio óptico alcanzando el margen de resección quirúrgica o que presenta extensión extraocular
  - pT4a: Tumor que invade el nervio óptico alcanzando el margen de resección quirúrgica pero no se identifica extensión extraocular
  - pT4b: Tumor que invade el nervio óptico alcanzando el margen de resección quirúrgica y además se identifica extensión extraocular

#### Hallazgos histopatológicos adicionales:

- Presencia de calcificaciones.
- Número de mitosis en 10 campos de gran aumento (40x).
- Presencia de cuerpos apoptóticos.
- Áreas de necrosis.
- Existencia de basofilia vascular.
- Presencia de células inflamatorias.
- Áreas de hemorragia.
- Neovascularización.

#### Bibliografía:

1. Grossniklaus HE, Finger PT, Harbour JW, Kivëla T. College of American Pathologists. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Retinoblastoma. 2016.
2. Brown HH, Wells JR, Grossniklaus HE. Tissue preparation for pathologic examination. In: Grossniklaus HE, ed. Pocket Guide to Ocular Oncology and Pathology. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2013.
3. Retinoblastoma. In: Edge SD, Byrd DR, Carducci MA, Compton CC, eds. AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer; 2010.
4. Yanoff M, Sassani JW (Eds). In: Ocular Pathology. Retinoblastoma and pseudoglioma. St. Louis, MO: Mosby Elsevier; 2009; 733-763.
5. McLean IW. Retinoblastomas, retinocytomas, and pseudoretinoblastomas. In: Spencer WH, ed. Ophthalmic Pathology. An Atlas and Textbook. 4th ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1996: 1332-1438.
6. McLean IW, Burnier MN, Zimmerman LE, Jakobiec FA (Eds). In: Tumors of the Eye and Ocular Adnexa. Atlas of Tumor Pathology. 3rd Series, Fascicle 12. Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology. Tumors of the retina. 1994. 97-154.
7. Mendoza PR, Specht CS, Hubbard GB, Wells JR, Lynn MJ, Zhang Q, Kong J, Grossniklaus HE. Histopathologic grading of anaplasia in retinoblastoma. Am J Ophthalmol. 2015; 159: 764-776.

8. 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; 133: 1199-1202.
9. Magrath I, Abramson DH, Ellsworth RM. Optic nerve involvement in retinoblastoma. *Ophthalmology.* 1989; 96: 217-222.

# Tumores y lesiones preneoplásicas conjuntivales

José Carlos López<sup>1</sup>, Juan Cuevas Álvarez<sup>2</sup>

1 *Laboratorio de Anatomía Patológica Ocular. Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de Valladolid.*

2 *Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela.*

## I. DISPLASIA CONJUNTIVAL

### Definición

Las lesiones displásicas que afectan a la conjuntiva también se clasifican en función de la profundidad de afectación del epitelio en los siguientes tipos:

- Displasia leve: Limitada al tercio inferior del epitelio conjuntival.
- Displasia moderada: Afecta a las dos terceras partes del epitelio conjuntival.
- Displasia grave: Alcanza el tercio superior del epitelio conjuntival.
- Carcinoma in situ: La displasia afecta a todo el espesor del epitelio conjuntival.

Como sinónimo se utiliza el término neoplasia intraepitelial conjuntival.

### Presentación clínica

Se puede afectar la conjuntiva de manera focal o difusa, aunque se localiza con mayor frecuencia en el limbo.

### Diagnóstico

El diagnóstico se basa siempre en el estudio histopatológico del tejido extirpado.

El diagnóstico diferencial debe realizarse con el papiloma, granuloma conjuntival, el granuloma piogénico y también con el carcinoma epidermoide de conjuntiva.

### Pronóstico

El pronóstico de estas lesiones es muy bueno y depende del estado de los márgenes quirúrgicos. Si éstos están libres las lesiones recurren solamente en el 5% de los casos.

### Tratamiento

El tratamiento de elección es la extirpación quirúrgica con márgenes amplios de 2-3 mm.

## II. CARCINOMA EPIDERMOIDE O DE CÉLULAS ESCAMOSAS, CLÁSICO

### Definición

Al igual que sucede en otras localizaciones anatómicas, la displasia conjuntival es una lesión precursora. En el carcinoma epidermoide existe ya una rotura de la membrana basal con invasión del tejido conectivo subepitelial.

### Factores de riesgo

Exposición a radiación ultravioleta (UV-B), infección por virus del papiloma humano (HPV), edad avanzada y exposición al humo de tabaco.

### Epidemiología

El carcinoma epidermoide se desarrolla generalmente en adultos con una media de edad de 55 años y es más frecuente en hombres que en mujeres (65% en hombres frente al 35% en mujeres).

Suelen afectarse las áreas cercanas al limbo y expuestas al sol, por lo que la aparición del carcinoma epidermoide conjuntival se asocia con la actividad al aire libre y la exposición solar.

### Presentación clínica

Este tipo de lesiones pueden presentarse como una masa gelatinosa, como una placa de coloración blanquecina o incluso simular un proceso inflamatorio en algunos casos.

### Diagnóstico

El diagnóstico se basa siempre en el estudio histopatológico del tejido extirpado en donde se observa una invasión del estroma conjuntival por nidos de células malignas.

El diagnóstico diferencial debe realizarse con la displasia conjuntival, el melanoma amelanótico, papiloma conjuntival y el granuloma piogénico.

Existen 2 variantes de carcinoma epidermoide, la variante fusocelular o fusiforme y el carcinoma mucoepidermoide.

### Pronóstico

La mayoría de los tumores recidivan en los 2 primeros años y se han descrito tasas de recurrencia de hasta el 30%. Sin embargo, la aparición de metástasis es poco frecuente.

### Tratamiento

El tratamiento de elección es la extirpación quirúrgica, recomendándose además aplicar crioterapia en los márgenes de la lesión en el momento de la cirugía.

Si los márgenes quirúrgicos de resección están infiltrados se puede utilizar como tratamiento adyuvante mitomicina C tópica, interferón alfa-2b o 5-fluorouracilo.

Las lesiones que presentan invasión de la esclera se pueden tratar con una esclerectomía parcial o mediante braquiterapia.

En casos muy avanzados, si la lesión invade el globo ocular es necesario realizar una enucleación.

## III. VARIANTE FUSOCELULAR O FUSIFORME DEL CARCINOMA EPIDERMOIDE

### Definición

Se trata de una variante agresiva y poco frecuente del carcinoma epidermoide constituida por células fusiformes.

**Factores de riesgo**

Como en el carcinoma epidermoide convencional parece existir una relación con la exposición a la radiación ultravioleta (UV-B).

**Epidemiología**

Se trata de una variante poco frecuente que representa aproximadamente el 0,1% de todas las lesiones conjuntivales extirpadas. Se afectan con mayor frecuencia los hombres.

**Presentación clínica**

La lesión puede aparecer como una masa poco definida o como una lesión nodular afectando al limbo.

**Diagnóstico**

Debe realizarse el diagnóstico diferencial principalmente con el melanoma de células fusiformes. Para ello es necesario la realización de un estudio inmunohistoquímico para citoqueratinas (cuyo resultado es positivo en la variante fusocelular), S-100, HMB-45 y Melan-A.

**Pronóstico**

Se trata de una variante agresiva del carcinoma epidermoide. De todas formas, es poco probable que se produzcan metástasis.

**Tratamiento**

Se requiere la extirpación quirúrgica completa.

Si la lesión invade la esclera puede ser necesario emplear técnicas como la esclerectomía y resección parcial o total de la pared ocular. Como tratamiento alternativo se podría aplicar braquiterapia. Si se produce invasión intraocular es necesario realizar una enucleación del globo ocular.

**IV. VARIANTE MUCOEPIDERMOIDE****Definición**

Se trata también de un tumor agresivo compuesto por células epiteliales que secretan mucina.

**Factores de riesgo**

En este caso no se conocen factores de riesgo específicos de esta variante.

**Epidemiología**

Esta variante es poco frecuente, apareciendo por igual tanto en hombres como en mujeres.

**Presentación clínica**

Suele presentarse como un nódulo carnoso o como una placa localizada a nivel de la conjuntiva bulbar o palpebral. Sin embargo, en algunas ocasiones puede no llamar la atención y simular una lesión sin importancia.

**Diagnóstico**

La tumoración adquiere una configuración glandular y está compuesta por células malignas que presentan núcleos pleomórficos vesiculados, con nucleolo evidente y un citoplasma eosinófilo abundante. Con tinciones especiales para mucina se observa una positividad intracitoplasmática. Esta neoplasia puede producir invasión intraocular.

**Diagnóstico diferencial**

El diagnóstico diferencial debe realizarse con el carcinoma epidermoide convencional. Como ya hemos mencionado, hay que tener en cuenta que se trata de una variante agresiva y es más probable que se produzca una invasión tanto de las estructuras intraoculares como de la órbita.

**Pronóstico**

Presentan una alta tasa de recurrencia y se necesita un seguimiento continuado de los pacientes afectados ya que tardíamente pueden aparecer metástasis a distancia.

**Tratamiento**

Se requiere la extirpación completa de la lesión. En casos seleccionados, se pueden tratar las recurrencias con braquiterapia. Si existe invasión intraocular u orbitaria puede ser necesario realizar una enucleación del globo ocular o exenteración de la órbita.

**V. MELANOSIS ADQUIRIDA PRIMARIA CONJUNTIVAL****Definición**

Es un término utilizado para describir una proliferación de melanocitos atípicos en la conjuntiva que se localiza a nivel intraepitelial o en la unión. Algunos autores han sugerido el término neoplasia intraepitelial melanocítica conjuntival como sinónimo de melanosis adquirida primaria.

**Factores de riesgo**

Su aparición se ha relacionado con la exposición solar a radiación ultravioleta (UVA-B) y al humo del tabaco.

**Epidemiología**

Esta lesión aparece con mayor frecuencia en individuos de mediana edad o edad avanzada y de raza blanca. Se afectan por igual tanto hombres como mujeres.

Aunque se han descrito casos bilaterales, lo habitual es que la afectación sea unilateral.

**Presentación clínica**

La mayoría de las lesiones son unilaterales. Puede aparecer clínicamente como una lesión plana de pequeño tamaño y coloración parduzca o como una lesión más difusa con áreas pigmentadas parcheadas. Puede haber partes amelanóticas, lo cual dificulta la localización de los límites de la lesión.

Se localizan habitualmente en la región límbica o alrededor del limbo y se pueden extender hacia el epitelio corneal.

**Diagnóstico**

La melanosis primaria adquirida con atipia se clasifica según los siguientes grados:

- Con atipia mínima: Patrón de crecimiento en empalizada en la base o presencia de células fusiformes.
- Con atipia moderada: Presencia de nidos a nivel de la unión, aparición de nidos intraepiteliales y/o extensión pagetoide con células epitelioides de pequeño tamaño o poligonales.
- Con atipia severa: Extensión pagetoide, presencia de nidos intraepiteliales y/o reemplazo de todo el espesor del epitelio por células epitelioides de gran tamaño.

La presencia de atipia severa indica que existe una alta probabilidad de que la lesión progrese y se desarrolle un melanoma. De hecho, se utiliza el término melanoma in situ como sinónimo de melanosis adquirida primaria con atipia severa.

En cambio, la melanosis primaria adquirida sin atipia o con atipia mínima es muy poco probable que progrese hacia una lesión maligna.

**Diagnóstico diferencial**

El diagnóstico diferencial debe realizarse con el nevus conjuntival, melanosis ocular, pigmentación conjuntival asociada a la raza (melanosis racial), melanocitosis ocular congénita y con el melanoma maligno. En los casos bilaterales debe tenerse en cuenta que podría tratarse de una enfermedad de Addison.

**Pronóstico**

La recurrencia local se correlaciona con la presencia de atipia. Se estima que el 60% de las lesiones con atipia recurren después de la extirpación y hay que tener presente que en el 50% de las lesiones que recurren va a aparecer un melanoma. Es más probable que recidiven aquellas lesiones que afectan a la córnea o que no se hayan extirpado completamente.

**Tratamiento**

El tratamiento de estas lesiones puede realizarse mediante extirpación quirúrgica o quimioterapia con mitomicina-C tópica.

Si la lesión mide más de 3 horas es necesario realizar un injerto de membrana amniótica o un injerto autólogo de conjuntiva.

Se recomienda aplicar crioterapia en los márgenes.

**Estadaje patológico**

pTis: Melanoma limitado al epitelio conjuntival, melanoma in situ (melanosis adquirida primaria con atipia severa).

- Se afecta como máximo un cuadrante de la conjuntiva bulbar.
- Se observa atipia en más del 75% del espesor del epitelio.
- Aparecen células epitelioides con citoplasma abundante, núcleos vesiculares o nucleolo prominente y/o presencia de nidos intraepiteliales de células atípicas.

**VI. MELANOMA CONJUNTIVAL****Definición**

Se trata de una neoplasia maligna invasiva de los melanocitos de la conjuntiva que se desarrolla habitualmente a partir de una melanosis primaria adquirida con atipia.

**Factores de riesgo**

Los principales precursores del melanoma conjuntival son la melanosis primaria adquirida con atipia y en menor medida el nevus de conjuntiva.

**Epidemiología**

El melanoma conjuntival es más frecuente en hombres y afecta a personas de mediana edad. Representa el 2% de las neoplasias oculares y el 5% de los melanomas oculares. Es muy rara su aparición en pacientes de raza negra.

**Presentación clínica**

Aunque el melanoma puede afectar a cualquier parte de la conjuntiva, lo habitual es que la afectación sea unilateral y se localice a nivel del limbo. Normalmente aparece como una lesión nodular pigmentada. También se han descrito casos amelanóticos.

**Diagnóstico**

Para poder alcanzar un diagnóstico definitivo se necesita realizar una extirpación completa de la lesión y un estudio histopatológico.

Se consideran cambios sospechosos de malignidad el crecimiento de la lesión, que ésta adquiera forma de nódulo, que aparezcan cambios de coloración, presencia de ulceración y aparición de sangrado.

Histológicamente podemos encontrar células poligonales de pequeño tamaño con displasia ligera, células fusiformes o células pleomórficas de gran tamaño con nucleolos prominentes.

Se recomienda realizar un estudio inmunohistoquímico para S-100, HMB-45 y Melan-A.

### Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial debe realizarse principalmente con:

- Melanosis primaria adquirida con atipia.
- Nevus.
- Extensión hacia el limbo de un melanoma uveal.
- Melanocitoma conjuntival o por extensión de un melanocitoma uveal.

### Pronóstico

En general, los melanomas conjuntivales que tienen un grosor menor de 1,5 mm se asocian con un pronóstico favorable.

Los melanomas que afectan a la conjuntiva bulbar tienen mejor pronóstico que los que afectan a la carúncula, fondo de saco conjuntival o la conjuntiva palpebral.

Se puede producir una diseminación a los ganglios linfáticos regionales, sobre todo en los melanomas con más de 1,5 mm de grosor.

### Tratamiento

Es necesaria una extirpación quirúrgica completa de la lesión para poder evaluar correctamente si existe o no afectación de los márgenes quirúrgicos. Además, se aplica crioterapia a nivel de los márgenes y en el lecho quirúrgico.

Para evitar recurrencias es necesario tratar también con mitomicina-C tópica las áreas con melanosis primaria adquirida con atipia.

### Estadaje patológico

- pT1: Melanoma que afecta a la conjuntiva bulbar:

En este caso, si consideramos la conjuntiva como la esfera de un reloj, se divide la conjuntiva en 4 cuadrantes Desde las 12 hasta las 3, desde las 3 hasta las 6, desde las 6 hasta las 9 y desde las 9 hasta las 12 horas.

- pT1a:
  - Grosor menor o igual a 0,5 mm con invasión del estroma.
  - Afecta a más de un cuadrante pero como máximo a 2 cuadrantes.
- pT1b:
  - Grosor mayor de 0,5 mm y menor o igual a 1,5 mm con invasión del estroma.
  - Afecta a más de dos cuadrantes pero como máximo a 3 cuadrantes.
- pT1c:
  - Grosor mayor de 1,5 mm con invasión del estroma.
  - Afecta a más de 3 cuadrantes.
- pT2: Melanoma que afecta a la conjuntiva palpebral, al fondo de saco conjuntival o a la región caruncular:
  - pT2a: Grosor menor o igual a 0,5 mm con invasión del estroma.
  - pT2b: Grosor mayor de 0,5 mm y menor o igual a 1,5 mm con invasión del estroma.
  - pT2c: Grosor mayor de 1,5 mm con invasión del estroma.
- pT3: Melanoma que invade el globo ocular, párpado, sistema nasolagrimal, senos paranasales o la órbita.
- pT4: Melanoma que invade el sistema nervioso central.



### **Bibliografía**

1. Pe'er J. Ocular surface squamous neoplasia. *Ophthalmol Clin North Am.* 2005;18:1-13.
2. Huntington AC, Langloss JM, Hidayat AA. Spindle cell carcinoma of the conjunctiva. An immunohistochemical and ultrastructural study of six cases. *Ophthalmology.* 1990;97:711-717.
3. Shields JA, Eagle RC, Marr BP, Shields CL, Grossniklaus HE, Stulting RD. Invasive spindle cell carcinoma of the conjunctiva managed by full-thickness eye wall resection. *Cornea.* 2007;26:1014-1016.
4. Hwang IP, Jordan DR, Brownstein S, Gilberg SM, McEachren TM, Prokopetz R. Mucoepidermoid carcinoma of the conjunctiva: a series of three cases. *Ophthalmology.* 2000;107:801-805.
5. Damato B, Coupland SE. Conjunctival melanoma and melanosis: a reappraisal of terminology, classification and staging. *Clin Exp Ophthalmol.* 2008;36:786-795.
6. Edge S, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, eds. *AJCC Cancer Staging Manual.* 7th ed. New York, NY: Springer-Verlag; 2010.



RECOMENDACIONES DEL  
CLUB DE PATOLOGÍA DE PARTES  
BLANDAS Y OSTEOARTICULAR DE  
LA SEAP

*Coordinadora: Silvia Bagué (sbaguer@santpau.es)*



# Protocolo de estudio y estandarización del informe patológico de los tumores de partes blandas malignos y de comportamiento intermedio de adolescentes y adultos

Juan C. Tardío<sup>1</sup>, Julia Cruz<sup>2</sup>, Aurora Astudillo<sup>3</sup>, Isidro Machado<sup>2</sup>, Juan José Pozo<sup>4</sup>, David Marcilla<sup>5</sup>, Silvia Bagué<sup>6</sup>

1 *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Fuenlabrada, Madrid.*

2 *Departamento de Patología. Instituto Valenciano de Oncología, Valencia.*

3 *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo.*

4 *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario La Paz, Madrid.*

5 *Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.*

6 *Servei de Patologia. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.*

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

Los sarcomas de partes blandas son neoplasias poco frecuentes, con una incidencia de cinco nuevos casos por 100000 habitantes al año en Europa<sup>1</sup>. Incluyen una amplia variedad de tipos y subtipos histológicos que aparecen en cualquier localización anatómica y presentan una gran heterogeneidad, existiendo, en ocasiones, un solapamiento de cuadros morfológicos entre diferentes tumores con comportamiento clínico y biológico muy diverso. Como consecuencia de lo anterior, el diagnóstico es complejo y poco reproducible y es necesario un equipo multidisciplinar para el abordaje diagnóstico y terapéutico, que se reúna periódicamente para analizar cada caso y su seguimiento<sup>2-4</sup>.

Aunque se aboga para que el diagnóstico y tratamiento de estas neoplasias se realice en centros especializados, la realidad es que se siguen diagnosticando en todos los hospitales, lo que hace necesaria la existencia de una guía que consensúe criterios que permitan homogeneizar la información, la terminología y la clasificación de estos tumores entre los diferentes centros. La introducción de estas guías conlleva una mejora en la calidad de los informes, como se ha demostrado en evaluaciones realizadas en diferentes países<sup>5,6</sup>.

Para la confección de este documento se han revisado diferentes guías de práctica clínica, protocolos internacionales de sarcomas de partes blandas<sup>7-9</sup> y bibliografía actualizada, tomándose en consideración los aspectos que más se adaptan a nuestro entorno.

## II. ETAPA PREANALÍTICA

**A. IDENTIFICACIÓN Y REGISTRO.** El impreso de solicitud de biopsia debe incluir los siguientes datos:

- nombre y apellidos del paciente, fecha de nacimiento, sexo y número de historia clínica
- servicio y médico solicitante, con teléfono y e-mail institucional de contacto.
- tipo de muestra remitida, junto con los hallazgos quirúrgicos (órganos y estructuras infiltradas) y la extensión de la resección (completa/tumor residual en la intervención)
- fecha y hora de obtención de la muestra.
- características clínicas y radiológicas de la lesión: tiempo de evolución, localización, tamaño, plano/profundidad (dermis, subcutáneo, profundo), relación con estructuras adyacentes, diagnóstico diferencial clínico-radiológico, extensión a distancia (si la hubiera), tratamientos previos (neoadyuvancia).
- antecedentes personales y familiares (neoplasias previas, síndromes de cáncer familiar asociados a sarcomas, como la neurofibromatosis tipo 1 y el síndrome de Li-Fraumeni, exposición a radiación, etc...).

**B. TIPOS DE MUESTRAS<sup>2-4,10,11</sup>:**

\* **Punción-aspiración con aguja fina (PAAF):** sólo se recomienda para diagnóstico inicial de sarcomas en centros con mucha experiencia. Fuera de este contexto, se utiliza para el diagnóstico de recidiva o metástasis de sarcomas ya conocidos y para diferenciar sarcomas de otros tumores (carcinomas, melanomas y linfomas). Puede ser útil en determinadas situaciones, como el diagnóstico de sarcomas de células redondas con material adecuado para realizar estudios moleculares.

\* **Biopsia con aguja gruesa (cerrada) (BAG/trucut):** debe realizarla el radiólogo intervencionista o el cirujano, sin necesidad de hospitalizar al paciente. Es el método más recomendado por sus escasas complicaciones, bajo coste y alta precisión diagnóstica y debe efectuarse en el centro en el que se llevará a cabo el tratamiento quirúrgico del paciente<sup>10</sup>. Si es representativa del tumor, permite diagnosticar el tipo/subtipo histológico y el grado histológico en aproximadamente el 80% de los casos. Generalmente, la técnica se realiza mediante control radiológico (ECO o TAC). Debe consensuarse con el radiólogo intervencionista/cirujano ortopédico que se tomen, como mínimo, cuatro cilindros representativos con agujas de 14 o 16G, que incluyan un muestreo de diferentes zonas del tumor, evitando las áreas de necrosis<sup>3,4</sup>. Salvo que aparezca un alto grado obvio en la BAG, el grado histológico definitivo se establece en la pieza quirúrgica. Algunos autores proponen que el trayecto de la aguja sea incluido en la cirugía posterior para reseca una posible implantación tumoral<sup>3</sup>.

\* **Biopsia intraoperatoria:** es útil para confirmar la presencia o no de tumor, seleccionar muestra para estudios complementarios y, si se dispone de excedente, guardar muestra en el biobanco<sup>3,7-9,12</sup>.

\* **Biopsia incisional:** está indicada únicamente en los casos en que la BAG no es diagnóstica. La debe llevar a cabo el cirujano que va a realizar la resección definitiva y la zona de la incisión debe ser incluida en la cirugía posterior para evitar diseminación<sup>2-4</sup>.

\* **Escisión marginal:** solamente en tumores superficiales de menos de 3 cm.

\* **Resección amplia/radical:** la resección del tumor con márgenes amplios es la piedra angular del tratamiento de los sarcomas<sup>13,14</sup>.

## C. PROCESAMIENTO

**1. Fijación:** todas las muestras, salvo las citológicas, deben fijarse en formol tamponado al 10%<sup>15</sup>.

\* **Citología (PAAF):** se fijarán en alcohol de 90° o se dejarán secar al aire. Si se obtiene material líquido hay que enviarlo al laboratorio inmediatamente después de su obtención. Se deberá procesar material en "citología en medio líquido" y confeccionar un bloque celular siempre que sea posible, remitiendo material para estudios complementarios (inmunocitoquímica, patología molecular, citogenética), si se precisa.

\* **BAG:** debe remitirse en fresco a Anatomía Patológica inmediatamente después de su obtención, garantizando que no hayan transcurrido más de 30 minutos entre la extracción y la llegada al laboratorio, con

el fin de preservar la integridad de los ácidos nucleicos y poder tomar muestras (criopreservación) para el biobanco, para lo que se precisa consentimiento informado. Los cilindros deben enviarse estirados sobre una gasa empapada en suero. Al recibirlos, contarlos y medirlos. Si es posible, realizar cuatro improntas y fijar dos en alcohol de 90° y otras dos dejarlas secar al aire. Si se dispone de material suficiente, congelar un fragmento a -80°C y almacenarlo en el biobanco y fijar el resto en formol tamponado al 10% durante un periodo de 6 a 24 horas.

\* **Biopsia incisional:** actuar como en la BAG.

\* **Biopsia escisional y resección amplia/radical:** es recomendable que se remita en fresco (ver BAG). Se fija en formol tamponado al 10% durante 24 a 48 horas. Si la muestra es grande, se deberán realizar incisiones, sin alterar la estructura, para mejorar la penetración del formol y, si es necesario, cambiar el recipiente enviado desde quirófano puesto que para garantizar una buena fijación es crítica la relación entre la cantidad de formol y el volumen de la pieza (20/1).

## 2. Tallado-inclusión<sup>7-9</sup>:

\* **BAG:** el patólogo debe separar los cilindros en más de un cassette para obtener la máxima productividad diagnóstica. Se utilizará un solo cassette en caso de que el material esté fragmentado o sea escaso.

\* **Biopsia incisional:** si el material es abundante, utilizar más de un cassette.

\* **Biopsia escisional y resección amplia/radical:**

- Orientar la pieza (deseable orientación por el cirujano, indicando músculos, fascia, vasos y nervios relevantes con marcaje adecuado).
- Medir la pieza en las tres dimensiones (en mm).
- Tomar fotos macroscópicas de la pieza (antes y después de seccionarla).
- 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 márgenes más próximos.
- Cortar la pieza quirúrgica perpendicularmente al eje mayor en secciones transversales de 2 mm de grosor.
- En caso de amputación de extremidades se puede congelar el miembro a -80°C durante no más de 24 a 48 horas.
- Identificar y medir la distancia del tumor a los márgenes de resección.
- Estimar el porcentaje de necrosis con respecto al volumen tumoral total.
- Las muestras menores de 2 cm de eje mayor deben incluirse en su totalidad.
- En el resto de las piezas, se recomienda una sección por cada centímetro de tumor en su eje mayor, hasta un máximo de 12 bloques. Adicionalmente, deben tomarse secciones de los márgenes situados a menos de 3 cm en sentido perpendicular. En las amputaciones incluir el borde de resección vascular. Tomar secciones que contengan la transición entre tejido normal y tumoral y del tejido tumoral en relación con estructuras (fascia, vasos, nervios) u órganos adyacentes. También se debe incluir un bloque que incluya necrosis en transición con tumor viable. Para resolver problemas concretos habrá que muestrear más ampliamente la pieza.
- En aquellos casos en que los que se recibe la piel con la cicatriz y el trayecto de la biopsia previa, éstos deben incluirse en su totalidad, previa seriación y marcando los planos con tinta china.
- Cuando sea posible, no se comprometa el diagnóstico y se disponga de consentimiento informado, se destinará al banco de tumores un bloque de tejido tumoral y otro de tejido sano.
- Si la muestra incluye ganglios linfáticos, incluir un corte por adenopatía.

## III. ETAPA ANALÍTICA.

Las técnicas diagnósticas utilizadas para el diagnóstico de los tumores de partes blandas son:

1. **Hematoxilina-Eosina (H&E):** con la utilización exclusiva de esta técnica se puede realizar el diagnóstico histopatológico correcto en una gran mayoría de los tumores de partes blandas<sup>16</sup>. Cuando no se pueda

llegar a un diagnóstico definitivo se recomienda clasificar el tumor según la morfología celular y/o el estroma predominante<sup>17</sup>: fusocelular, epitelioides, de células redondas, pleomorfo o mixoide. Siempre que sea posible hay que incluir el grado histológico.

2. **Histoquímica:** poco utilizada actualmente en tumores de partes blandas, salvo en casos muy concretos, como la identificación de cristales en el sarcoma alveolar de partes blandas con tinción de PAS.
3. **Inmunohistoquímica (IHQ):** el patólogo debe seleccionar diferentes paneles de anticuerpos según la morfología del tumor<sup>16-18</sup>.
4. **Biología molecular (BM):** indicada cuando no se puede emitir un diagnóstico definitivo en base únicamente a las características morfológicas y/o inmunohistoquímicas, en casos con presentación clinicopatológica inusual o cuando el resultado de estos estudios aporta relevancia pronóstica<sup>3,8,9,19</sup>.
5. **Microscopia electrónica:** tiene un uso limitado hoy en día como soporte diagnóstico cuando las técnicas previamente descritas no han sido concluyentes (ej. tumores con diferenciación miofibroblástica).

Antes de emitir un diagnóstico de sarcoma es importante descartar lesiones benignas que simulan un sarcoma (pseudosarcomas), como la miositis osificante y la fascitis nodular<sup>20</sup>. Es recomendable realizar revisión histológica de todos los casos en que el paciente va a ser tratado en un centro diferente de aquel en que se realizó el diagnóstico. En algunas ocasiones, puede existir discrepancia entre el diagnóstico original y el diagnóstico final emitido por un patólogo de referencia en centros con experiencia en esta patología<sup>21,22</sup>.

#### IV. ETAPA POST-ANALÍTICA

Incluye la interpretación de los resultados y la elaboración y emisión del informe patológico, así como el archivo de los bloques de parafina y las preparaciones histológicas.

#### EL INFORME PATOLÓGICO

##### 1. Datos de registro

- Nombre y apellidos del paciente, fecha de nacimiento, sexo, número de historia clínica.
- Institución donde se realiza el estudio (nombre, dirección, teléfono).
- Identificación del servicio y del médico que realiza la petición.
- Número de registro del estudio.
- Patólogo responsable del diagnóstico y que firma el informe.

##### 2. Datos clínicos

- Procedimiento de obtención (tipo de resección/biopsia).
- Localización de la lesión.
- Tamaño de la lesión (preferentemente medida radiológica).
- Plano/profundidad (dermis, tejido subcutáneo, inter/intramuscular, intracavitario...).
- Tratamiento neoadyuvante (especificar).

##### 3. Datos patológicos

###### \* **BAG/Biopsia incisional**

###### Datos macroscópicos

- Número y dimensiones de los cilindros o medidas de la biopsia incisional.
- Modo de remisión: en fresco o en formol.
- Características morfológicas: color, consistencia, necrosis, hemorragia, cicatrices, áreas quísticas, calcificaciones... (preferentemente para biopsia incisional).
- Improntas realizadas, si procede.
- Material remitido para estudios complementarios (citogenética, patología molecular), si procede.



- Muestra conservada en el biobanco, si procede.
- Nº de bloques incluidos.

### Datos microscópicos

- Tipo histológico (clasificación OMS 2013<sup>23</sup>). La clasificación precisa de los tumores de partes blandas en material de biopsia, especialmente en cilindros, no es posible en todos los casos. En estas situaciones, el tumor debe clasificarse según la morfología de la célula y/o estroma predominante: fusocelular, epitelioide, de células redondas, pleomorfo y/o mixoide.
- Grado histológico: sistema de gradación francés FNCLCC<sup>24</sup>.

### Consideraciones sobre el grado histológico<sup>23</sup>:

- El grado debe establecerse únicamente en muestras representativas adecuadamente procesadas y obtenidas antes de la terapia neoadyuvante.
- En la BAG existe una limitación para la graduación con riesgo de infravalorar el grado. Éste sólo debe asumirse como definitivo cuando la puntuación sea de grado 3.
- En tumores de partes blandas, el grado es sólo aplicable a los sarcomas, no sustituye al diagnóstico histológico y no sirve para diferenciar lesiones benignas y malignas. No se utiliza en tumores de comportamiento biológico intermedio (localmente agresivos o raramente metastatizantes).
- El grado no es aplicable a todos los tipos de sarcomas de partes blandas, ya que en determinados casos el tipo determina el grado histológico.
- No se recomienda graduar:
  1. Liposarcomas desdiferenciados y de células redondas. El sistema FNCLCC no se utiliza en los liposarcomas desdiferenciados, pero se recomienda informar si el componente desdiferenciado es de bajo o de alto grado
  2. Rbdomiosarcomas
  3. Sarcoma alveolar de partes blandas
  4. Sarcoma epitelioide
  5. Tumor rabdoide maligno
  6. Sarcoma de células claras
  7. Sarcoma de Ewing
  8. Sarcomas indiferenciados de células redondas
  9. Tumor desmoplásico de células pequeñas redondas
- Invasión venosa y/o linfática
- Resultados de estudios complementarios (inmunohistoquímica, citogenética, patología molecular), si procede

### \* Resección

#### Datos macroscópicos

- Tipo de procedimiento<sup>8</sup>: resección intralesional, resección marginal, resección amplia o resección radical.
- Medida de la pieza quirúrgica en tres dimensiones (en mm) y descripción (órganos y tejidos incluidos).
- Orientación de la pieza quirúrgica, si procede.
- Modo de remisión: en fresco o en formol.
- Localización y extensión macroscópica del tumor: si es superficial (piel, subcutáneo) o profundo (fascial, subfascial, intramuscular, mediastínico, intraabdominal, retroperitoneal, paratesticular). Tumores subcutáneos que infiltran la fascia se consideran profundos. Relación con las estructuras adyacentes.
- Tamaño del tumor: medir en tres dimensiones y cuantificar en mm.
- Características del tumor: especificar % macroscópico de necrosis.
- Distancia a los márgenes de resección y tipos de tejido que los constituyen.
- Presencia de nódulos satélites

- Ganglios linfáticos, si procede (nº, localización y características)
- Resultado del estudio intraoperatorio, si procede.
- Tejido suministrado para estudio microscópico (nº y descripción de bloques)
- Material remitido para estudios complementarios, si procede
- Muestra conservada en el biobanco, si procede

#### Datos microscópicos

- Tipo histológico: clasificación de la OMS 2013<sup>23</sup>.
- Grado histológico: sistema FNCLCC<sup>24</sup>.
- Invasión vascular y de otras estructuras/órganos adyacentes.
- Márgenes<sup>25</sup> (medir en mm): positivo (especificar qué margen, si la muestra está orientada) o negativo con la distancia al margen más próximo (si es < 2 cm) y tipo de margen (subcutáneo, fascia, músculo, hueso). Especificar todos los márgenes situados a menos de 2 cm, si la muestra está orientada.
- Tratamiento previo: radioterapia y/o quimioterapia.
- Ganglios totales y afectos.
- pTNM (8ª edición)<sup>26</sup>.
- La recidiva es reestadiada con el mismo sistema de estadiaje que el tumor primario (pTNM al que se añade el prefijo "r").
- Resultados de las técnicas de IHQ y de BM o citogenética, con el método utilizado (PCR en tiempo real, FISH).
- Otros hallazgos patológicos, si procede.

#### Bibliografía

1. Stiller CA, Trama A, Serraino D, Rossi S, Navarro C, Chirlaque MD, et al. Descriptive epidemiology of sarcomas in Europe: report from the RARECARE project. *Eur J Cancer*. 2013;49:684-95.
2. Garcia del Muro X, de Alava E, Artigas V, Bagué S, Braña A, Cubedo R, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of patients with soft tissue sarcoma by the Spanish Group for Research in Sarcomas (GEIS). *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016;77:133-46.
3. ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2014;25 (suppl. 3):iii102-12.
4. Nystrom LM, Reimer NB, Reith JD, Dang L, Zlotecki RA, Scarborough MT, et al. Multidisciplinary management of soft tissue sarcoma. *ScientificWorldJournal*. 2013. doi:10.1155/2013/852462.
5. Jansen-Landheer ML, Krijnen P, Oostindiër MJ, Kloosterman-Boele WM, Noordijk EM, Nooij MA, et al. Improved diagnosis and treatment of soft tissue sarcoma patients after implementation of national guidelines: a population-based study. *Eur J Surg Oncol*. 2009;35:1326-32.
6. Shah C, Wang J, Mubako T, Fisher C, Thway K. Gross examination and reporting of soft tissue tumours: evaluation of compliance with the UK Royal College of Pathologists soft tissue sarcoma dataset. *J Clin Pathol*. 2016;69:761-6.
7. The Royal College of Pathologists of Australasia. Soft tissue tumor resection structured reporting protocol. 1<sup>st</sup> Edition (2011). Disponible en. <https://www.rcpa.edu.au/getattachment/4890eb56-a5a5-4d10-8ce8-60f1710ef7c2/Protocol-Soft-tissue-tumour-resections.aspx>.

8. College of American Pathologists. Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Tumors of Soft Tissue. October 2013. Disponible en: <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/softtissue-13protocol-3120.pdf>.
9. Fisher C. Dataset for histopathology reporting of soft tissue sarcomas (4<sup>th</sup> ed.). The Royal College of Pathologists. January 2017. Disponible en: <https://www.rcpath.org/resourceLibrary/g094-datasetsoft-tissue-jan17.html>.
10. Adams SC, Potter BK, Pitcher DJ, Temple HT. Office-based core needle biopsy of bone and soft tissue malignancies: an accurate alternative to open biopsy with infrequent complications. *Clin Orthop Relat Res.* 2010;468:2774–80.
11. Traina F, Errani C, Toscano A, Pungetti C, Fabbri D, Mazzotti A, et al. Current concepts in the biopsy of musculoskeletal tumors. *J Bone Joint Surg Am.* 2015;97:e7.
12. Taxy JB. Frozen section and the surgical pathologist: a point of view. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133:1135-8.
13. Singer S, Corson JM, Demetri GD, Healey EA, Marcus K, Eberlein TJ. Prognostic factors predictive of survival for truncal and retroperitoneal soft-tissue sarcoma. *Ann Surg.* 1995; 221:185-95.
14. O'Donnell PW, Griffin AM, Eward WC, Sternheim A, Catton CN, Chung PW, et al. The effect of the setting of a positive surgical margin in soft tissue sarcoma. *Cancer.* 2014;120:2866-75.
15. Bass BP, Engel KB, Greytak SR, Moore HM. A review of preanalytical factors affecting molecular, protein, and morphological analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue: how well do you know your FFPE specimen?. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138:1520-30.
16. Fisher C. Immunohistochemistry in diagnosis of soft tissue tumours. *Histopathology.* 2011;58:1001-12.
17. Goldblum JR, Folpe AL, Weiss SW. *Enzinger & Weiss's Soft Tissue Tumors.* 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2014.
18. Lin G, Doyle LA. An update on the application of newly described immunohistochemical markers in soft tissue pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139:106-21.
19. van de Rijn M, Guo X, Sweeney RT, Beck AH, West RB. Molecular pathological analysis of sarcomas using paraffin-embedded tissue: current limitations and future possibilities. *Histopathology.* 2014;64:163-70.
20. Allen PW, Allen LJ. Perce the permissive pathologist: A cautionary tale of one who misdiagnosed a pseudosarcoma, killed the patient and was found out. *Aust N Z J Surg.* 1994;64:273-4.
21. Ray-Coquard I, Montesco MC, Coindre JM, Dei Tos AP, Lurkin A, Ranchère-Vince D, et al. Sarcoma: Concordance between initial diagnosis and centralized expert review in a population-based study within three European regions. *Ann Oncol.* 2012;23:2442-9.
22. Thway K, Wang J, Mubako T, Fisher C. Histopathological diagnostic discrepancies in soft tissue tumours referred to a specialist centre: Reassessment in the era of ancillary molecular diagnosis. *Sarcoma.* 2014, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/686902.24>.

23. Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F, eds. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC Press; 2013.
24. Guillou L, Coindre JM, Bonichon F, Nguyen BB, Terrier P, Collin F, et al. Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading systems in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol*. 1997;15:350-62.
25. Trovik CS, Skjeldal S, Bauer H, Rydholm A, Jebsen N. Reliability of margin assessment after surgery for extremity soft tissue sarcoma: the SSG experience. *Sarcoma*. 2012. doi:10.1155/2012/290698
26. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C, et al, eds. UICC TNM classification of malignant tumours. 8<sup>th</sup> ed. Oxford, UK: Wiley Blackwell; 2017.

# Protocolo para el estudio de muestras y estandarización del informe patológico de tumores óseos

Isidro Machado<sup>1</sup>, José Juan Pozo<sup>2</sup>, David Marcilla<sup>3</sup>, Julia Cruz<sup>1</sup>, Juan C. Tardío<sup>4</sup>, Aurora Astudillo<sup>5</sup>, Sílvia Bagué<sup>6</sup>

1 *Departamento de Patología, Instituto Valenciano de Oncología, Valencia.*

2 *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario La Paz, Madrid.*

3 *Servicio de Anatomía Patológica, Unidad de Gestión Clínica (UGC) Virgen del Rocío-Osuna, Sevilla.*

4 *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Fuenlabrada, Fuenlabrada, Madrid.*

5 *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General de Asturias, Oviedo.*

6 *Servei de Patologia, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.*

## I. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico diferencial de las lesiones óseas incluye diferentes entidades: metástasis, infecciones, enfermedades metabólicas, neoplasias hematológicas y tumores óseos primarios benignos y malignos<sup>1-10</sup>. Estos últimos son raros y representan menos del 0,2% de todas las neoplasias malignas en general. En patología osteoarticular, y particularmente en los tumores óseos, es imprescindible la integración de los hallazgos clínicos, radiológicos y patológicos. El diagnóstico es difícil porque se trata de neoplasias poco frecuentes y requiere de experiencia. Es fundamental que existan grupos multidisciplinares formados, como mínimo, por radiólogos, cirujanos ortopédicos, patólogos y oncólogos (médicos y radioterápicos) con el objetivo de lograr un adecuado abordaje diagnóstico y terapéutico de estos tumores<sup>4-11</sup>.

Esta guía pretende resumir los diferentes procedimientos y protocolos macroscópico y microscópico en el manejo de las neoplasias óseas. En la elaboración de este documento se han revisado diferentes protocolos utilizados internacionalmente (Colegio Americano de Patólogos [CAP]<sup>4</sup>, Royal College of Pathologist/UK<sup>5-7</sup>, Royal College of Pathologists of Australasia<sup>8</sup>, Guías ESMO<sup>9</sup> y SEOM<sup>10</sup>). El objetivo es proporcionar una serie de recomendaciones que puedan contribuir a mejorar el manejo y la evaluación patológica de los sarcomas óseos en nuestro medio.

## II. ETAPA PRE-ANALÍTICA

Identificación de datos clínicos, de registro y radiológicos necesarios; descripción de los tipos de procedimientos, y procesamiento (congelación, fijación, descalcificación, tallado, inclusión)

## A. DATOS CLÍNICOS Y RADIOLÓGICOS NECESARIOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LOS TUMORES ÓSEOS

### 1. Datos clínicos y de registro

Para realizar un registro y diagnóstico adecuados es fundamental disponer de una información detallada sobre los datos de filiación del paciente y de los detalles relacionados con la muestra. En el formulario o solicitud de estudio de biopsia deben figurar los siguientes aspectos <sup>4-11</sup>:

- Nombre del servicio e institución hospitalaria donde se analiza el material histopatológico.
- Nombre del paciente, edad, fecha de nacimiento, sexo y número de identificación (historia clínica).
- Número de biopsia asignado en el estudio patológico.
- Nombre del médico y del servicio solicitante
- Fecha y hora de obtención de la muestra y del registro en el laboratorio de anatomía patológica (AP).
- Tipo de procedimiento: biopsia por punción (BAG, tru-cut), biopsia quirúrgica abierta (incisional), legrado o curetaje, resección segmentaria/en bloque, amputación, desarticulación, hemipelvectomía, etc.
- Lateralidad (derecha, izquierda, línea media).
- Información clínica adicional relevante.

### 2. Datos radiológicos

Antes de emitir el diagnóstico de un tumor óseo es imprescindible conocer los datos radiológicos (que deberían estar incluidos en la solicitud de estudio patológico) y establecer una correlación radiológica-patológica adecuada <sup>4,12-15</sup>. Incluir la sospecha diagnóstica o el diagnóstico diferencial radiológico es también muy orientativo. Son datos necesarios:

- Hueso afecto.
- Localización del tumor en el hueso (epífisis, metáfisis, diáfisis): es muy orientativo como parámetro inicial ya que, en huesos largos, los tumores tienden a distribuirse en localizaciones determinadas.
- Tamaño del tumor, patrón radiológico y presencia o no de extensión a partes blandas

Cuando esta información no esté disponible, es recomendable reflejarlo en el informe patológico. En los pacientes sometidos a tratamiento neoadyuvante, la comparación entre el aspecto radiológico pre y pos-tratamiento es de gran utilidad para realizar una estimación de la respuesta patológica.

## B. TIPO DE PROCEDIMIENTO

Los principios fundamentales para la realización de una biopsia ósea se basan en evitar la contaminación de tejidos normales. El método de elección recomendado actualmente como procedimiento diagnóstico inicial es la biopsia cerrada por punción (trefina, trocar, tru-cut) con control radiológico, generalmente TAC, para asegurar que la muestra sea representativa del tumor. Debe evitarse puncionar áreas quísticas con hemorragia y/o necrosis. Suelen emplearse agujas con grosor de 14 o 16G <sup>12,13,15,16</sup>. Generalmente el grosor de la aguja no influye en la calidad de la muestra, pero sí la longitud del cilindro. Cuando los radiólogos intervencionistas y/o cirujanos ortopédcas envían muestras que, por su tamaño, impiden realizar un diagnóstico definitivo, se recomienda solicitar una nueva biopsia.

1. **Punción por aspiración con aguja fina (PAAF):** Tiene una función limitada en el diagnóstico inicial de los tumores óseos. El estudio citológico está indicado principalmente para la confirmación de recidiva y/o metástasis en pacientes con diagnóstico previo de sarcoma así como para el diagnóstico de metástasis óseas <sup>12,13,15,16</sup>. En algunos casos permite la obtención de material apto para estudios moleculares y es útil para diferenciar sarcomas de otros tipos de tumor.
2. **Biopsia intraoperatoria (por congelación):** Proporciona información sobre la posible estirpe histológica del tumor y el estado de los márgenes de resección pero, en general, no debe usarse para emitir un diagnóstico definitivo <sup>4,16</sup>. También permite realizar extensiones en portas para estudios moleculares.
3. **Biopsia por punción (trefina, trocar, tru-cut):** Es el método recomendado para el diagnóstico de tumores óseos y de partes blandas debido a que es mínimamente invasiva y no requiere hospitali-

zación. Siempre que sea representativa, permite establecer el tipo histológico del tumor y el grado histológico. Con el uso de la biopsia cerrada se puede definir si la lesión es mesenquimal o no y confirmar la malignidad en la mayor parte de los casos. La mayoría de autores proponen que el trayecto de biopsia debe incluirse en la cirugía definitiva 12-16

4. **Biopsia por curetaje o legrado:** Puede emplearse en el diagnóstico inicial de algunos tumores óseos, sobre todo cuando la sospecha es de benignidad <sup>12,16</sup>.
5. **Biopsia incisional:** Indicada fundamentalmente cuando el diagnóstico con una biopsia cerrada/por punción no es concluyente o cuando existe una discordancia entre el resultado de la biopsia cerrada y los hallazgos clínicos y radiológicos <sup>4,12-16</sup>.
6. **Biopsia escisional, resección amplia, resección en bloque, resección radical (amputación/desarticulación):** Estas técnicas deben realizarlas cirujanos o traumatólogos con experiencia que garanticen una resección con márgenes amplios.

### C. PROCESAMIENTO

Para el procesamiento de las muestras se usará el método estándar establecido por cada laboratorio. Los servicios de AP deben realizar controles de calidad externos (SEAP, CAP) e internos. Los técnicos y los patólogos deben estar cualificados y con experiencia en el procesamiento de muestras procedentes de lesiones/tumores óseos.

- *Obtención de muestras para el biobanco:* Es recomendable que las muestras lleguen en fresco al laboratorio ya que permite realizar diferentes procedimientos: uso de agentes fijadores específicos para estudios histoquímicos o de microscopia electrónica (ME), obtención de tejido fresco para estudios citogenéticos y almacenamiento de tejido congelado para estudios de genética molecular y/o para el biobanco de tumores. Siempre que sea posible y no interfiera con el diagnóstico, se recomienda congelar fragmentos de tumor y conservarlos en el biobanco, así como tomar impresas citológicas en portaobjetos, para estudios de citogenética <sup>4,15-17</sup>. La inclusión de material tisular en el biobanco para estudios posteriores requiere la cumplimentación de un consentimiento informado.
- *Fijación:* Las muestras deben enviarse en fresco al laboratorio en los primeros 30min desde su extracción, con el objetivo de preservar la integridad de los ácidos nucleicos. Tras la selección de material para estudios complementarios y/o biobanco, cuando no se requiera congelación o cuando exista la posibilidad de retraso en la llegada de la muestra al laboratorio, se recomienda fijarla inmediatamente en formol tamponado neutro al 10%.
  - Biopsia por punción (cerrada), legrado y biopsia incisional: Debe fijarse durante un período de entre 6 y 24h.
  - Biopsia escisional y piezas quirúrgicas de resección ósea: Deben fijarse durante 24-48h <sup>4,14-16</sup>. Si la muestra es grande (pieza quirúrgica) se recomienda realizar algunos cortes –sin alterar la estructura– para mejorar la penetración del formol.
  - Resección radical (compartimentos completos o amputaciones): Las piezas de amputación de extremidades pueden congelarse a -80°C. Posteriormente se procede a la sección y a la fijación. Este sistema permite tener una mejor relación del tumor con las estructuras anatómicas adyacentes.

Si la pieza de resección incluye prótesis metálicas o áreas de cementación (principalmente en casos de tumor de células gigantes recidivados) se requiere presencia del traumatólogo, que aportará su experiencia y el material adecuado para facilitar el manejo de la pieza.

- *Fotografía y radiografía de la pieza:* La pieza quirúrgica debe ser fotografiada antes de la disección y al corte. Es recomendable realizar una radiografía simple de una sección del tumor con el fin de identificar las zonas más mineralizadas, que requerirán una descalcificación más prolongada. Se recomienda enumerar los bloques de parafina señalizando, en un dibujo, qué zona del hueso corresponde a cada sección tomada para el análisis histológico <sup>4,13-16</sup>.

- **Descalcificación:** Antes de realizar cualquier procedimiento diagnóstico las muestras deben estar adecuadamente fijadas y, cuando sea necesario, descalcificadas. La mayoría de las técnicas convencionales (hematoxilina-eosina [H-E], histoquímica) e inmunohistoquímica (IHQ) pueden realizarse de manera satisfactoria en tejidos descalcificados incluso con ácidos. Sin embargo, el empleo de ácidos fuertes puede interferir en los estudios de genética molecular debido a que generan fragmentación del ADN y del ARN. La mayoría de las biopsias de hueso requieren por lo menos 3h de fijación en formol y, una vez fijadas, puede procederse a la descalcificación<sup>15-17</sup>. La elección del método de descalcificación depende del tipo de muestra (biopsia o pieza quirúrgica). Los descalcificadores genéricos incluyen los agentes quelantes (EDTA), el ácido fórmico al 5-15% y el ácido nítrico al 5-10%<sup>16-21</sup>. Cuando se usa EDTA se necesita mucho tiempo para lograr una descalcificación adecuada, sin embargo, con este método suele preservarse bien el tejido para estudios de IHQ, técnicas histoquímicas e incluso para las técnicas de hibridación in situ (FISH). La descalcificación con ácido nítrico es muy rápida y, cuando no se controla adecuadamente, puede producir una descalcificación exagerada<sup>16-21</sup>. Muchos autores recomiendan el ácido fórmico como agente de elección para la descalcificación, con una concentración que varía entre el 5-10% en tampón de citrato de sodio<sup>16-21</sup>. Generalmente con este método se logra una descalcificación más rápida y uniforme si la muestra es agitada continuamente. Cada laboratorio debe elegir el método con el cual logre los mejores resultados.
- **Tallado e inclusión:** Para el estudio general de las muestras, los laboratorios de AP deben disponer de un equipamiento básico que incluye una sierra mecánica para cortar huesos e instalaciones seguras que faciliten la disección de muestras que contienen hueso y permitan el almacenamiento de las que, una vez talladas, requieran fijación y/o descalcificación adicional.
- **Biopsia por punción, legrado o curetaje:** Lo ideal es incluir material representativo del tumor y evitar las zonas de necrosis<sup>4-10</sup>.
  - Se recomienda colocar por separado cada cilindro en un casete para rentabilizar al máximo el material. Si el cilindro de tejido tiene un grosor mayor de 5mm, puede dividirse longitudinalmente.
  - Realizar una descripción macroscópica general del material recibido.
  - Antes de fijar los cilindros en formol, es recomendable hacer improntas, seleccionar tejido fresco para estudios genéticos/biobanco y separar los tejidos blandos de las zonas calcificadas.
- **Pieza quirúrgica (Muestreo de tejido tumoral en piezas quirúrgicas procedentes de resecciones segmentarias y/o amputaciones por tumores óseos):** Antes de cortar la pieza para ver las características macroscópicas del tumor es recomendable revisar los estudios radiológicos (especialmente la resonancia magnética) que indicará en qué proyección (sagital, coronal, axial) se encuentra el mayor volumen tumoral y permitirá seleccionar el plano de sección más representativo del tumor. Deben seleccionarse secciones representativas de las siguientes zonas<sup>4-10</sup>:
  - Secciones de tumor: deben tomarse secciones del tumor que incluyan áreas donde el aspecto macroscópico sea diferente. Se recomienda una sección por cada cm de tumor, considerando el diámetro máximo del mismo. En resecciones de tumores grandes se deben procesar mínimo de 6 a 10 secciones del tumor en bloques de parafina, si es posible, destinar una muestra de tejido sano y otra de tejido tumoral al banco de tumores.
  - Secciones de los márgenes de resección más cercanos. Es conveniente marcar los bordes con tinta china.
  - Secciones de cualquier zona anómala localizada en hueso, tejidos blandos o piel.
  - Secciones de los ganglios linfáticos y del límite vascular.

### III. ETAPA ANALÍTICA

Descripción de cómo el patólogo realiza el diagnóstico y de los métodos/técnicas utilizados para llegar al diagnóstico definitivo



## A. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO

### Tipo histológico

El examen microscópico de las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, junto con la integración de los datos clínicos y radiológicos, constituye, aún hoy, la base del diagnóstico de los tumores óseos<sup>1,22-50</sup>. En casos determinados, para un diagnóstico definitivo se requiere el uso de técnicas adicionales como la histoquímica, IHQ y/o la patología molecular<sup>4,51-64</sup>. El diagnóstico y la clasificación de los tumores óseos se basa fundamentalmente en el tipo de diferenciación del tumor (que se evidencia por el tipo de matriz que forman las células neoplásicas: osteoide, cartílago, tejido fibroso), el patrón arquitectural y las características citológicas de la neoplasia. Se recomienda el uso de la clasificación de la OMS de 2013<sup>1</sup>, que incorpora datos morfológicos y genéticos. En los casos de pacientes previamente biopsiados y remitidos desde otros centros hospitalarios se recomienda solicitar el informe patológico y revisar el material de biopsia y/o de resección (preferentemente bloques de parafina y laminillas originales).

### Grado histológico

El tipo histológico por sí mismo determina el grado histológico. Se recomienda la clasificación de la OMS 2013<sup>1</sup> (tabla 1), que consiste en una clasificación en 3 grados. En el fibrosarcoma, leiomioma, liposarcoma y otros sarcomas que ocurren fundamentalmente en partes blandas se usa el sistema de gradación francés FNCLCC<sup>1,3</sup>.

## B. MÉTODOS UTILIZADOS PARA LLEGAR AL DIAGNÓSTICO

**Histoquímica:** Estas técnicas suelen ser poco específicas y se han reemplazado por la IHQ. Pueden ser útiles en el diagnóstico diferencial de ciertos tumores (Sarcoma de Ewing, condrosarcoma de células claras, carcinomas)<sup>1,27-31</sup>. La tinción positiva para mucina se observa en el adenocarcinoma metastásico y en el cordoma<sup>41,49</sup>.

**Inmunohistoquímica:** El estudio IHQ es muy útil para determinar el tipo de diferenciación de un tumor (muscular, neural, vascular, etc.), para excluir otros tipos de neoplasias no mesenquimales (carcinoma, melanoma, linfoma) y para establecer el diagnóstico diferencial entre los tumores fusocelulares, de células redondas, epitelioides, etc.<sup>1,2,16,29,34,48,50-63</sup>. En el diagnóstico de los tumores óseos sigue siendo fundamental el análisis morfológico (por ejemplo, la identificación de osteoide). Sin embargo, la IHQ es muy útil en los tumores de células pequeñas y redondas, para la confirmación del inmunofenotipo característico que define ciertas neoplasias hematopoyéticas, en la histiocitosis de células de Langerhans, en el adamantinoma y en los tumores notocordales<sup>1,2,22-60</sup>. En los últimos años se han comercializado algunos anticuerpos que podrían ayudar en el diagnóstico diferencial de las neoplasias óseas, algunos de ellos todavía controvertidos: SATB2, que se expresa en tumores con diferenciación osteoblástica, puede ser útil para el diagnóstico de osteosarcoma en biopsias pequeñas en las que no se identifica osteoide, y en el diagnóstico diferencial entre osteosarcoma de células pequeñas y sarcoma de Ewing<sup>50,56,57</sup>. En caso de sospecha de condrosarcoma, la positividad para las proteínas S100, SOX9, ERG, COX-2 e IDH1 puede ofrecer datos adicionales en el diagnóstico definitivo, aunque en ocasiones es difícil el diagnóstico diferencial con osteosarcoma condroblástico donde no se detecte osteoide<sup>1,2,25-29</sup>. Una tinción intensa y difusa de membrana para CD99 es muy sugestiva de sarcoma de Ewing<sup>1,56,57</sup>. La expresión nuclear de brachyury es muy característica y específica de los tumores notocordales (cordoma)<sup>1,49</sup>. La tinción positiva para CD31 y ERG ocurre en los tumores con diferenciación endotelial (hemangioma, hemangioendotelioma epitelioides, angiosarcoma)<sup>1,38,49,58,59</sup>. La positividad para CAMTA1 y TFE3 puede favorecer en algunos casos el diagnóstico de hemangioendotelioma epitelioides<sup>38,58,59</sup>. El MUC4 facilita el diagnóstico diferencial entre el fibrosarcoma epitelioides esclerosante, mioepitelioma maligno y osteosarcoma, ya que generalmente es positivo en el primero y negativo en los 2 últimos<sup>60</sup>. Por otra parte, una inmunotinción positiva con marcadores epiteliales (CK y EMA) apoya la posibilidad de metástasis de un tumor epitelial, aunque no hay que olvidar que algunos tumores óseos primarios pueden expresar estos marcadores (osteosarcoma, mioepitelioma maligno y adamantinoma)<sup>1,2,48,51-57</sup>.

**Estudios genéticos y moleculares** (FISH, RT-PCR): Están indicados, generalmente, cuando la integración de los datos histológicos e IHQ no permiten establecer un diagnóstico definitivo<sup>1,4-10,52-59,61-64</sup>. El objetivo de estos estudios es la identificación, mediante técnicas de RT-PCR o FISH, de translocaciones cromosómicas y/o fusiones génicas características de algunos tumores. En los estudios moleculares que requieren una evaluación morfológica –como el FISH– debe haber un patólogo responsable de seleccionar el material más adecuado para realizar estas técnicas. La lectura o el diagnóstico puede realizarlo tanto el patólogo como un biólogo con experiencia. Los tumores que con mayor frecuencia requieren estudio IHQ y molecular para el diagnóstico son los tumores de células redondas. Las diferentes alteraciones moleculares permiten, incluso, una subclasificación de los sarcomas de células redondas que afectan al hueso. Otros tumores óseos que, en situaciones seleccionadas, pueden beneficiarse de los estudios moleculares son el heman-gioendotelioma epitelioides (fusión génica *WWTR1-CAMTA1*)<sup>58,59</sup> y el quiste óseo aneurismático (QOA). Un 70% de los QOA primarios muestran reordenamiento del gen *USP6* (fusión génica *USP6-CDH11*) que puede detectarse mediante FISH, lo que resulta útil en el diagnóstico diferencial entre diferentes neoplasias ricas en células gigantes, fundamentalmente QOA, tumor de células gigantes, condroblastoma y osteosarcoma telangiectásico<sup>1,4-10,36-38,42,43</sup>. En resumen, el estudio genético y molecular en los tumores óseos está indicado:

- En el diagnóstico de variantes morfológicas poco habituales: sarcoma de Ewing atípico (de células grandes), mioepitelioma maligno con rasgos rabdoideos, sarcomas Ewing-like (con ausencia de translocación característica), etc.
- En el diagnóstico de tumores con morfología convencional pero con presentación clínico-patológica inusual (por edad y/o localización): sarcoma de Ewing cutáneo, mucoso o visceral, en paciente mayor de 45 años, sarcomas de Ewing con desmoplasia en localización intraabdominal.
- Como parámetro de evaluación pronóstica, dianas terapéuticas e inclusión en ensayos clínicos.

Se recomienda que los estudios moleculares se realicen en centros de referencia con experiencia, aunque algunos estudios, como el FISH, pueden realizarse en otros hospitales.

### C. EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE

En los tumores tratados con quimioterapia neoadyuvante (sarcoma osteogénico y sarcoma de Ewing principalmente) es fundamental valorar el efecto del tratamiento. Dicha respuesta se cuantifica como el porcentaje de necrosis tumoral respecto al volumen tumoral total y constituye un importante factor pronóstico: una necrosis superior al 90% indica buen pronóstico (mayor supervivencia libre de enfermedad)<sup>4,65-68</sup>. Para determinar el grado de necrosis y valorar la respuesta al tratamiento se realiza un muestreo completo de una sección central del tumor («mapa histológico»). Este método proporciona una aproximación que ha resultado ser válida para valorar el efecto de la quimioterapia. Se realiza una bisección de la pieza quirúrgica a través del plano central del tumor y siguiendo el eje mayor del mismo. A continuación se obtiene una lámina o sección longitudinal del tumor que se subdivide en una cuadrícula (mapa) de un tamaño que permite introducir cada uno de estos fragmentos en un casete. Se realiza una foto del mapa y se numera e identifica cada bloque, que corresponde a cada zona tallada. La valoración de la necrosis se realiza de forma semicuantitativa. Se caracteriza por la presencia de picnosis y fragmentación nuclear o por la desaparición completa del tumor<sup>65-68</sup>.

## IV. ETAPA POSTANALÍTICA

### Interpretación de resultados y emisión del informe patológico

El documento fundamental de la fase postanalítica es el informe patológico, el cual aporta información al cirujano y al oncólogo sobre el diagnóstico y los factores pronósticos relevantes que ayudan en la selección del tratamiento más adecuado, así como en el manejo y seguimiento de los pacientes. Además, facilita la inclusión de los tumores en una base de datos o registro de neoplasias con fines estadísticos y epidemiológicos.

**A. INFORME PATOLÓGICO DE BIOPSIAS PEQUEÑAS** (*trocar, trefina, tru-cut, legrado, biopsia incisional*) de tumores óseos

El informe debe incluir <sup>4-10</sup>:

- Datos de registro-identificación.
- Tipo de procedimiento.
- Datos macroscópicos.
- Diagnóstico histológico (tipo y subtipo). Cuando no es posible definir el tipo histológico, es útil clasificar el tumor según el patrón morfológico predominante de forma similar a lo que se realiza en los tumores de partes blandas (fusocelular, pleomórfico, epitelioide, células redondas, rabdoide, mixoide, etc.).
- Grado histológico (sólo en los condrosarcomas; en el resto de tumores óseos el tipo histológico por sí mismo determina el grado).
- Resultados de los estudios de IHQ y biología molecular cuando se hayan realizado.
- Descripción microscópica (opcional; recomendable únicamente si aporta información relevante o aclaratoria).

**B. PARÁMETROS O REQUISITOS BÁSICOS DEL INFORME PATOLÓGICO DE TUMORES ÓSEOS** (*piezas quirúrgicas*)

Protocolo para la emisión del informe patológico <sup>4-10</sup>

- Datos de registro-identificación (ver proforma en material suplementario, anexo 1).
- Datos clínico-radiológicos.
- Datos patológicos:
  - Descripción macroscópica (ver proforma, anexo 1)
  - Descripción microscópica (ver proforma, anexo 1)

**ANEXO 1: propuesta de proforma similar al protocolo que usa el CAP y el Royal College of Pathologist para el informe patológico de los tumores óseos.**

Nombre:..... Apellidos: ..... Edad:..... Fecha nac..... Sexo:  
 ..... Historia Clínica..... Patólogo responsable:..... Médico solicitante: .....  
 Fecha de recepción:..... Fecha del informe:..... Nº del informe  
 AP:.....

**INFORMACIÓN CLÍNICA Y RADIOLÓGICA**

**Tipo de muestra remitida:** biopsia cilíndrica  curetaje/legrado  biopsia quirúrgica abierta  Escisión local simple  resección segmentaria o en bloque  amputación/desarticulación

**Dimensiones de la muestra (tres medidas en mm):** .....

**Localización anatómica:**.....

**Localización del tumor en el hueso:** Epifisis/apófisis  Metáfisis  Diáfisis  Cortical  Médula

Yuxtacortical  Extra-óseo (partes blandas)  Espacio articular  No definido  otros.....

**Lateralidad:** izquierdo  derecho  línea media  desconocido

**INFORMACIÓN PATOLÓGICA**

**Tamaño del tumor (tres dimensiones en mm):**.....

**Diagnóstico histológico (tipo y subtipo)** .....

**Grado histológico:** grado I  grado II  grado III

**Necrosis tumoral (macroscópica y/o microscópica):** .....%

**Extensión local del tumor (solo para tumores intramedulares):** Intracompartamental

Extracompartamental

Si es extracompartamental: articulaciones  partes blandas extra-óseas

**Márgenes de resección quirúrgicos:** libres  infiltrados  especificar.....

**Distancia al margen más cercano:** .....mm

**Tipo de tejido en el margen más cercano de resección de partes blandas:** Músculo  Grasa  Tejido

fibroso  Tumor  otro  especificar.....

**Se confirmó el diagnóstico histológico con algún estudio de biología molecular:** Si, confirmado  No

confirmado  Estudio no realizado

**Resultados del estudio IHQ y/o de Biología Molecular:** .....

**Tratamiento preoperatorio:** si  no  especificar.....

**Necrosis tumoral en respuesta al tratamiento pre-operatorio:** .....%

**Clasificación TNM (opcional):** pT... pN..... pM.....

**Número de ganglios metastásicos:** Número de ganglios examinados:

**Comentarios adicionales (opcional):**

**Patólogo responsable** ..... **Fecha:** .....

<b>Grado 1</b> ( <i>bajo grado, localmente agresivos y metástasis infrecuentes o raras</i> )
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumor cartilaginoso atípico/ Condrosarcoma grado I</li> <li>• Condrosarcoma de células claras</li> <li>• Osteosarcoma parostal</li> <li>• Osteosarcoma intramedular de bajo grado</li> </ul>
<b>Grado 2</b> ( <i>grado intermedio</i> )
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adamantinoma clásico</li> <li>• Condrosarcoma grado II</li> <li>• Osteosarcoma perióstico</li> <li>• Cordoma</li> </ul>
<b>Grado 3</b> ( <i>alto grado</i> )
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Osteosarcoma (convencional, telangiectásico, de célula pequeña, secundario, de alto grado superficial)</li> <li>• Sarcoma de Ewing</li> <li>• Sarcoma pleomórfico indiferenciado</li> <li>• Condrosarcoma grado III</li> <li>• Condrosarcoma desdiferenciado</li> <li>• Condrosarcoma mesenquimal</li> <li>• Cordoma desdiferenciado</li> <li>• Tumor de células gigantes maligno de hueso</li> </ul>

**Tabla 1.** Clasificación de los tumores óseos malignos según el grado histológico.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los miembros de los clubes de Patología Osteoarticular y de Partes Blandas de la SEAP por las aportaciones en la discusión del protocolo.

### Bibliografía

1. Fletcher CD, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F. WHO classification of tumours of soft tissue and bone. 4th ed. Lyon: IARC; 2013.
2. Eefting D, Schrage YM, Geirnaerd MJ, Le Cessie S, Taminiau AH, Bovée JV, et al. Assessment of interobserver variability and histologic parameters to improve reliability in classification and grading of central cartilaginous tumours. *Am J SurgPathol.* 2009;33:50-7.
3. Guillou L, Coindre JM, Bonichon F, Nguyen BB, Terrier P, Collin F, et al. Comparative study of the National Cancer Institute and French Fédération of Cancer Centers Sarcoma Group grading systems in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol.* 1997;15:350---62.
4. Rubin BP, Antonescu CR, Cooper FK, Gannon FH, Leigh Hunt FJ, Inwards CY, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with tumours of bone. College of American Pathologists; 2013 [consultado 12 Dic 2015]. Disponible en: <http://www.cap.org>

5. Mangham DC, Athanasou NA. Guidelines for histopathological specimen examination and diagnostic reporting of primary bone tumors. *Clin Sarcoma Res.* 2011;1:1-6.
6. Athanasou NA, Mangham DC. Dataset for histopathology reports on primary bone tumours. The Royal College of Pathologists; 2015 [consultado 12 Dic 2015]. Disponible en: [http://www.evidence.nhs.uk/Search?om=\[%22srn%22:\[%22Royal%20College%20of%20Pathologists%20%20RCPATH%22\]\],{%22toi%22:\[%22Guidance%22\]\]&q=bone+tumor](http://www.evidence.nhs.uk/Search?om=[%22srn%22:[%22Royal%20College%20of%20Pathologists%20%20RCPATH%22]],{%22toi%22:[%22Guidance%22]]&q=bone+tumor).
7. Dataset for histopathology reports on primary bone tumours. London: The Royal College of Pathologists; 2010 [consultado 12 Dic 2015]. Disponible en: <http://www.rcpath.org/index.asp?PageID=1635>
8. Soft tissue tumor resection structured reporting protocol. The Royal College of Pathologists of Australasia. 1st ed.; 2011 [consultado 12 Dic 2015]. Disponible en: <https://www.rcpa.edu.au/getattachment/4890eb56-a5a5-4d10-8ce8-60f1710ef7c2/Protocol-Soft-tissue-tumour-resections.aspx>
9. ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Bone sarcomas: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014;25 Suppl. 3:113-23.
10. Redondo A, Cruz J, Lopez-Pousa A, Barón F. SEOM clinical guidelines for the treatment of osteosarcoma in adults-2013. *Clin Transl Oncol.* 2013;15:1037-43.
11. UICC, International Union against Cancer. En: Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch, editores. TNM classification of malignant tumours. 7th ed. New York, NY: Wiley-Liss; 2009.
12. Wu JS, Goldsmith JD, Horwich PJ, Shetty SK, Hochman MG. Bone and soft-tissue lesions: What factors affect diagnostic yield of image-guided core-needle biopsy? *Radiology.* 2008;248:962-70.
13. Mc Carthy EF. CT-guided needle biopsies of bone and soft tissue tumors: A pathologist's perspective. *Skeletal Radiol.* 2007;36:181-2.
14. Brien EW, Mirra JM, Kerr R. Bening and malignant cartilage tumors of bone and joint. Their anatomic and theoretical basis with an emphasis on radiology, pathology and clinical biology. I: The intramedullary cartilage tumors. *Skeletal Radiol.* 1997;26:325-53.
15. Traina F, Errani C, Toscano A, Pungetti C, Fabbri D, Mazzotti A, et al. Current concepts in the biopsy of musculoskeletal tumors: AAOS exhibit selection. *J Bone Joint Surg Am.* 2015;97:1-6.
16. Errani C, Traina F, Perna F, Calamelli C, Faldini C. Current concepts in the biopsy of musculoskeletal tumors. *Scientific-World Journal.* 2013, 538152.
17. Singh VM, Salunga RC, Huang VJ, Tran Y, Erlander M, Plumlee P, et al. Analysis of the effect of various decalcification agents on the quantity and quality of nucleic acid (DNA and RNA) recovered from bone biopsies. *Ann Diagn Pathol.* 2013;17:322-6.
18. Mangham DC, Williams A, McMullan DJ, McClure J, Sumathi VP, Grimer RJ, et al. Ewing's sarcoma of bone: The detection of specific transcripts in a large, consecutive series of formalin fixed, decalcified, paraffin-embedded tissue samples using the reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Histopathology.* 2006;48:363-76.

19. De Jong D, Verbeke SLj, Meijer D, Hogendoorn PC, Bovee JV, Szuhai K. Opening the archives for state of the art tumour genetic research: Sample processing for array-CGH using decalcified, formalin-fixed, paraffin-embedded tissue-derived DNA samples. *BMC Res Notes*. 2011;4:1-11.
20. Bass BP, Engel KB, Greytak SR, Moore HM. A review of preanalytical factors affecting molecular, protein, and morphological analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue: How well do you know your FFPE specimen? *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138:1520-30.
21. Choi SE, Hong SW, Yoon SO. Proposal of an appropriate decalcification method of bone marrow biopsy specimens in the era of expanding genetic molecular study. *J Pathol Transl Med*. 2015;49:236-42.
22. Ramappa AJ, Lee FYI, Tang P, Carlson JR, Gerbhardt MC, Mankin HJ. Chondroblastoma of bone. *J Bone Joint Surg Am*. 2000;82:1140-5.
23. Wu CT, Inwards CY, O'Laughlin S, Rock MG, Beabout JW, Unni KK. Chondromyxoid fibroma of bone: A clinicopathologic review of 278 cases. *Hum Pathol*. 1998;29:438-46.
24. Nojima T, Unni KK, McLeod RA, Pritchard DJ. Periosteal condroma and periosteal chondrosarcoma. *Am J Surg Pathol*. 1985;9:666-77.
25. Bjornsson J, McLeod RA, Unni KK, Ilstrup DM, Pritchard DJ. Primary chondrosarcoma of long bones and limb girdles. *Cancer*. 1998;83:2105-19.
26. Gelderblom H, Hogendoorn PW, Dijkstra SD, van Rijswyk C, Krol A, Taminiau AHM, et al. The clinical approach towards chondrosarcoma. *Oncologist*. 2008;13:320-9.
27. Donati D, Yin J, Colangeli M, Colangeli S, di Bella C, Bacchini P, et al. Clear cell chondrosarcoma of bone: Long time follow-up of 18 cases. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2008;128:137-42.
28. Staals EL, Bacchini P, Bertoni F. Dedifferentiated chondrosarcoma. *Cancer*. 2006;106:2682-91.
29. Nakashima Y, Unni KK, Shives TC, Swee RG, Dahlin DC. Mesenchymal chondrosarcoma. A review of 111 cases. *Cancer*. 1986;57:2444-53.
30. McHugh JB, Mukherji SK, Lucas DR. Sino-orbital osteoma: A clinicopathologic study of 45 surgically treated cases with emphasis on tumor with osteoblastoma-like features. *Arch Pathol LabMed*. 2009;133:1587-93.
31. Lucas DR, Unni KK, McLeod RA, O'Connor MI, Sim FH. Osteoblastoma. Clinicopathologic study of 306 cases. *Human Pathol*. 1994;25:117-34.
32. Klein MJ, Siegal GP. Osteosarcoma. Anatomic and histologic variants. *Am J Clin Pathol*. 2006;125:555-81.
33. Okada F, Frassica FJ, Sim FH, Beabout JW, Bond JR, Unni KK. Parosteal osteosarcoma. A clinicopathological study. *J Bone Joint Surg Am*. 1994;76:366-78.
34. Inwards CY, Unni KK, Beabout JW, Sim FH. Desmoplastic fibroma of bone. *Cancer*. 1991;68:1978-83.



35. Romeo S, Bovée JV, Kroon HM, Tirabosco R, Natali C, Zanatta L, et al. Malignant fibrous histiocytoma and fibrosarcoma of bone: A re-assessment in the light of currently employed morphological, immunohistochemical and molecular approaches. *Virchows Arch.* 2012;461:561-70.
36. Turcotte RE. Giant cell tumor of bone. *Orthop Clin North Am.* 2006;37:35-51.
37. Kalem Z, Kyriakos M, Totty WG. Solitary skeletal hemangioma of the extremities. *Skeletal Radiol.* 2000;29:502-13.
38. Evans HL, Raymond AK, Ayala AG. Vascular tumors of bone: A study of 17 cases other than ordinary hemangioma, with evaluation of the relationship of hemangioendothelioma of bone to epithelioid hemangioma, epithelioid hemangioendothelioma, as high-grade angiosarcoma. *Hum Pathol.* 2003;34:660-89.
39. Demircay E, Hornicek FJ, Mankin HJ, Degroot H. Malignant lymphoma of bone: A review of 119 patients. *Clin Orthop.* 2013;471:2648-90.
40. Banerjee SS, Verna S, Shanks JH. Morphological variants of plasma cell tumours. *Histopathology.* 2004;44:2-8.
41. Martínez-Tello FJ, Conde Gallego E, Manjón Luengo P, Ricoy Campo JR, Pérez Barrios A. Cordoma. Sus variantes y diagnóstico diferencial. *Rev Esp Patol.* 2007;40:135-45.
42. Vergel de Dios AM, Bond JR, Shives TC, McLeod RA, Unni KK. Aneurysmal bone cyst: A clinicopathologic study of 238 cases. *Cancer.* 1992;69:2921-31.
43. Whitaker SB, Waldrom CA. Central giant cell lesions of the jaws. A clinical, radiologic, and histopathologic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993;75:199-208.
44. Sloomweg PJ, Panders AK, Koopmans R, Nikkels PGJ. Juvenile ossifying fibroma. An analysis of 33 cases with emphasis on histopathological aspects. *J Oral Pathol Med.* 1994;23:385-8.
45. DiCaprio MR, Enneking WF. Fibrous dysplasia. Pathophysiology, evaluation, and treatment. *J Bone Joint Surg.* 2005;87:1848-64.
46. Kilpatrick SE, Wenger DE, Gilchrist GS, Shives TC, Wollan PC, Unni KK. Langerhans' cell histiocytosis (histiocytosis X) of bone. A clinicopathologic analysis of 263 pediatric and adult cases. *Cancer.* 1995;76:2471-84.
47. Keeney GL, Unni KK, Beabout JW, Pritchard DJ. Adamantinoma of long bones. A clinicopathologic study of 85 cases. *Cancer.* 1989;64:730-7.
48. Gleason BC, Liegl-Atzwanger B, Kozakewich HP, Connolly S, Gebhardt MC, Fletcher JA, et al. Osteofibrous dysplasia and adamantinoma in children and adolescents: A clinicopathologic reappraisal. *Am J Surg Pathol.* 2008;32:363-76.
49. Lin G, Doyle LA. An update on the application of newly described immunohistochemical markers in soft tissue pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139:106-21.
50. Kashima TG, Dongre A, Oppermann U, Athanasou NA. Dentine matrix protein 1 (DMP-1) is a marker of bone-forming tumours. *Virchows Arch.* 2013;462:583-91.



51. Conner JR, Hornick JL. SATB2 is a novel marker of osteoblastic differentiation in bone and soft tissue tumours. *Histopathology*. 2013;63:36-49.
52. Davis JL, Horvai AE. Special AT-rich sequence-binding protein 2 (SATB2) expression is sensitive but may not be specific for osteosarcoma as compared with other high-grade primary bone sarcomas. *Histopathology*. 2016;69:84-90.
53. Righi A, Gambarotti M, Longo S, Benini S, Gamberi G, Cocchi S, et al. Small cell osteosarcoma: Clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular analysis of 36 cases. *Am J Surg Pathol*. 2015;39:691-9.
54. Righi A, Gambarotti M, Benini S, Gamberi G, Cocchi S, Picci P, et al. MDM2 and CDK4 expression in periosteal osteosarcoma. *Hum Pathol*. 2015;46:549-53.
55. Yoshida A, Ushiku T, Motoi T, Beppu Y, Fukayama M, Tsuda H, et al. MDM2 and CDK4 immunohistochemical coexpression in high-grade osteosarcoma: Correlation with a dedifferentiated subtype. *Am J Surg Pathol*. 2012;36:423-31.
56. Machado I, Noguera R, Mateos EA, Calabuig-Fariñas S, López FI, Martínez A, et al. The many faces of atypical Ewing's sarcoma. A true entity mimicking sarcomas, carcinomas and lymphomas. *Virchows Arch*. 2011;458:281-90.
57. Llombart-Bosch A, Machado I, Navarro S, Bertoni F, Bacchini P, Alberghini M, et al. Histological heterogeneity of Ewing's sarcoma/PNET: An immunohistochemical analysis of 415 genetically confirmed cases with clinical support. *Virchows Arch*. 2009;455:397-411.
58. Doyle LA, Fletcher CD, Hornick JL. Nuclear Expression of CAMTA1 distinguishes epithelioid hemangioendothelioma from histologic mimics. *Am J Surg Pathol*. 2016;40:94-102.
59. Shibuya R, Matsuyama A, Shiba, Harada H, Yakubi K, Hisaoka M. CAMTA1 is a useful immunohistochemical marker for diagnosing epithelioid haemangioendothelioma. *Histopathology*. 2015;67:827-35.
60. Wojcik JB, Bellizzi AM, Dal Cin P, Bredella MA, Fletcher CD, Hornicek FJ, et al. Primary sclerosing epithelioid fibrosarcoma of bone: Analysis of a series. *Am J Surg Pathol*. 2014;38:1538-44.
61. Puls F, Niblett AJ, Mangham DC. Molecular pathology of bone tumours: Diagnostic implications. *Histopathology*. 2014;64:461-76.
62. Cohen-Gogo S, Cellier C, Coindre JM, Mosseri V, Pierron G, Guillemet C, et al. Ewing-like sarcomas with BCOR-CCNB3 fusion transcript: A clinical, radiological and pathological retrospective study from the Société Française des Cancers de l'Enfant. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61:2191-8.
63. Smith SC, Buehler D, Choi EY, McHugh JB, Rubin BP, Billings SD, et al. CIC-DUX sarcomas demonstrate frequent MYC amplification and ETS-family transcription factor expression. *Mod Pathol*. 2015;28:57-68.
64. Panagopoulos I, Mertens F, Löfvenberg R, Mandahl N. Fusion of the COL1A1 and USP6 genes in a benign bone tumor. *Cancer Genet Cytogenet*. 2008;180:70-3.
65. Raymond AK, Chawla SP, Carrasco CH, Ayala AG, Fanning CV, Grice B, et al. Osteosarcoma chemotherapy effect: A prognostic factor. *Semin Diagn Pathol*. 1987;4:212-36.

66. Springfield DS, Schakel ME Jr, Spanier SS. Spontaneous necrosis in osteosarcoma. *Clin Orthop Relat Res.* 1991;263:233-7.
67. Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, Rimondini S, Longhi A, Bacchini P, et al. Prognostic factors in non metastatic Ewing's sarcoma of bone treated with adjuvant chemotherapy: Analysis of 359 patients at the Istituto Ortopedico Rizzoli. *J Clin Oncol.*2000;18:4-11.
68. Picci P, Böhling T, Bacci G, Ferrari S, Sangiorgi L, Mercuri M, et al. Chemotherapy-induced tumour necrosis as a prognostic factor in localized Ewing's sarcoma of the extremities. *J ClinOncol.* 1997;15:1553-9.

# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA PEDIÁTRICA DE LA SEAP

*Coordinador: Daniel Azorín (daniel.azorin@salud.madrid.org)*



# Guía diagnóstica para cardiopatías congénitas

Alfons Nadal

Hospital Clínic, Universitat de Barcelona

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

Las cardiopatías congénitas ocurren con una prevalencia estimada en 8 por cada 1000 nacidos vivos y esta ha aumentado a lo largo de los años, aunque esto puede ser debido al incremento en los recursos tecnológicos empleados para su diagnóstico, más que a un aumento real de la patología. Las cardiopatías congénitas, aisladas o en el contexto de síndromes o asociaciones, son una causa frecuente de interrupción de la gestación, tras la que al patólogo se le solicitará que confirme los diagnósticos prenatales. Esta guía pretende facilitar el estudio del corazón sistematizando en qué momentos de la disección cardíaca se hacen evidentes las distintas alteraciones diagnósticas de las cardiopatías congénitas más frecuentes.

## II. ANATOMÍA NORMAL DEL CORAZÓN FETAL

El corazón se encuentra en la parte inferior de la cavidad torácica y ocupa la línea media y parte del hemitórax izquierdo, con la punta ventricular orientada hacia la izquierda (levocardia).

La **aurícula derecha (AD)** morfológica se reconoce externamente por la forma triangular redondeada y la unión amplia entre la orejuela y su componente venoso. En el *situs solitus* auricular se encuentra en posición derecha. Internamente los músculos pectíneos se distribuyen en abanico desde la cresta terminal, que se encuentra entre la orejuela (trabeculada) y la parte de pared lisa de la aurícula. En el septo interauricular se encuentran el agujero oval y restos de las válvulas del seno venoso. La sangre de la circulación sistémica entra en la aurícula a través de las venas cava superior e inferior y desde el seno coronario, que desemboca en la parte posteroinferior del septo interauricular, se recoge la sangre venosa del propio corazón. La AD contiene el nodo sinusal junto a la desembocadura de la vena cava superior y el nodo atrioventricular (AV) en el vértice del triángulo de Koch, donde se cruzan al anillo fibroso de la tricúspide y el tendón de Todaro, que es la continuación de la válvula de Tebesio.

La **aurícula izquierda (AI)** morfológica se reconoce externamente por su orejuela estrecha y en forma de gancho con una unión estrecha con la porción venosa. Carece de cresta terminal y los músculos pectíneos no se extienden alrededor de la unión AV. En el *situs solitus* auricular se la encuentra en el lado izquierdo del corazón.

La **conexión AV** se denomina concordante cuando la AD morfológica conecta con el ventrículo derecho (VD) morfológico y la AI se conecta al ventrículo izquierdo (VI) morfológico, discordante cuando la AD morfológica derecha se conecta con el VI morfológico y la izquierda con el derecho, o ambigua en casos de

isomerismo atrial, en que al ser ambas aurículas de la misma morfología hay una conexión concordante y otra discordante, ya que, a diferencia de lo que ocurre con las aurículas nunca hay isomerismo ventricular porque el ventrículo morfológicamente derecho se desarrolla a partir de un receso del izquierdo.

**La conexión ventriculoarterial** también puede ser concordante (el VD morfológico se conecta a la arteria pulmonar y el izquierdo a la aorta), discordante (el derecho conectado con la aorta y el izquierdo conectado a la pulmonar) o ambigua (uno o ambos ventrículos se conectan simultáneamente a ambas arterias o a un único tronco común).

**El VD morfológico** se reconoce por el aspecto de la superficie del septo interventricular en su porción apical, que está trabeculada e incluye músculos papilares. La válvula tricúspide posee tres valvas, anterior, posterior y septal. Sus valvas tienen cuerdas tendinosas que se recogen en los músculos papilares, con grupos anterior, posterior y medio, con inserción de cuerdas directamente en el septo interventricular. En la cara auricular de las dos válvulas AVes pueden verse unos nódulos blanquecinos, los nódulos de Albini.

**El cono de salida**, separado de la porción trabecular por la cresta supraventricular, se continúa con la arteria pulmonar. La válvula pulmonar posee tres valvas, izquierda, derecha y anterior. La arteria pulmonar sale del ventrículo por delante de la aorta, cruzándola, y se divide en ramas derecha e izquierda y conducto arterioso que deriva la circulación pulmonar hacia la circulación sistémica. La arteria pulmonar derecha entra al pulmón por debajo del bronquio principal derecho (bronquio eparterial) mientras que la izquierda lo hace por encima del bronquio principal izquierdo (bronquio hiparterial).

**El VI morfológico** se caracteriza por una superficie de la porción apical del septo interventricular finamente trabeculada a diferencia de la trabeculación gruesa del VD. La válvula mitral posee cuerdas tendinosas unidas a músculos papilares anteriores y posteriores, pero carece de unión al septo interventricular. El VI no tiene cono, lo que significa que el infundíbulo de salida no es exclusivamente muscular, como el del VD, sino que es parcialmente fibroso. La válvula aórtica se encuentra en el centro de la base del corazón, equidistante de ambas valvas AVes y posee tres valvas, izquierda, derecha y posterior. En la porción central del borde libre de las valvas ventriculoarteriales están unos engrosamientos llamados cuerpos de Arancio. Existe una continuidad fibrosa entre la válvula aórtica y la valva anterior de la mitral.

**La aorta** sale del corazón hacia la derecha, gira hacia la izquierda en el cayado, del que salen los vasos supraaórticos por este orden: el tronco braquiocefálico que se divide en arteria subclavia derecha y carótida primitiva derecha, la arteria carótida primitiva izquierda y la arteria subclavia izquierda. Distal a la salida de la subclavia izquierda se encuentra el istmo aórtico hasta la conexión con el conducto arterioso, desde donde continúa la aorta descendente que se sitúa a la izquierda del esófago. Los diámetros del tronco principal de la arteria pulmonar, el conducto arterioso y la aorta descendente son parecidos. El diámetro de la aorta ascendente suele ser inferior.

### III. EXPLORACIÓN DEL CORAZÓN

La disección del corazón se hace siguiendo el curso de la sangre. La calidad del tejido junto a la experiencia del patólogo son determinantes para el resultado de la disección. La maceración causa una pérdida de consistencia que la hace más difícil. En cambio, cuando el feto alcanza un grado de momificación, la desecación del tejido se acompaña de una recuperación de la consistencia por lo que el feto momificado puede ser un buen objeto de disección cardiaca. Es conveniente practicar la disección del corazón en fresco. Fijar el corazón antes de la disección lo endurece y fragiliza, por lo que no suele ganarse nada con la fijación previa. En los casos afectados por maceración, en cambio, una fijación de 24 horas en formol al 4% puede recuperar parcialmente la consistencia y facilitar la disección.

El corazón ocupa la porción central de la cavidad torácica. Está flanqueado por los pulmones, rodeado por el pericardio y descansa sobre el diafragma. En función de la técnica autopsica aplicada el corazón puede disecarse **"in situ"** o **tras la evisceración**. En cualquier caso, es preferible practicar la disección sobre el bloque cardiopulmonar íntegro para garantizar la conservación de las relaciones. Antes de abrir el pericardio hay

que explorar la existencia de derrame. El volumen de derrame se puede determinar después de recogerlo mediante aspiración con una jeringa o vertiéndolo en una batea.

Si se practica la disección del corazón "in situ" (sin eviscerar) conviene ligar la vena cava inferior entre el diafragma y su desembocadura en la AD. De no hacerlo así, la sangre acumulada en la cavidad abdominal fluye a través de la cava inferior, sobretodo por compresión sobre el hígado, y anega el área de trabajo.

El pericardio debe retirarse en su totalidad para permitir la inspección externa del corazón.

- Debe determinarse **la posición del corazón**:
  1. La orientación del vértice cardíaco define la **levo-** (a la izquierda), **meso-** (vertical) o **dextrocardia** (a la derecha).
  2. La posición del corazón en la cavidad torácica define la **levo-** (ocupando el centro y parte de la cavidad izquierda), **meso-** (centrada) o **dextroposición** (ocupando el centro y parte de la cavidad derecha).
- El **situs auricular** se define del siguiente modo:
  1. **Situs solitus**: AD morfológica a la derecha y AI morfológica a la izquierda
  2. **Situs inversus**: AD morfológica a la izquierda y AI morfológica a la derecha
  3. **Isomerismo atrial**: ambas aurículas son iguales entre sí, bien sea derechas o izquierdas
    - a) **Isomerismo atrial derecho**: ambas aurículas con forma de AD
    - b) **Isomerismo atrial izquierdo**: ambas aurículas con forma de AI
- En la **yuxtaposición de las orejuelas auriculares**, ambas se encuentran al mismo lado de la salida de las grandes arterias, la una junto a la otra. Dentro de su rareza, la forma más habitual es aquella en que la orejuela derecha se sitúa a la izquierda.
- La salida de las grandes arterias en paralelo, en lugar de la salida normal cruzada, es diagnóstica de **transposición de las grandes arterias (TGA)**. Desde el aspecto anterior el VD ocupa la mayor parte de la superficie del corazón, aunque ambos ventrículos sean de tamaño similar. Las arterias coronarias descendentes anterior y posterior son buenos indicadores de la posición del septo interventricular. Las diferencias en tamaño entre las estructuras del corazón derecho y las del corazón izquierdo deben alertar sobre una **hipoplasia de cavidades cardíacas**. La aurícula derecha grande debe alertar sobre una posible **atresia tricúspide** o una **anomalía de Ebstein**.
- Con el corazón aún *in situ*, la maniobra de Taussig identifica un **retorno venoso pulmonar anómalo completo**. Normalmente, el desplazamiento del corazón hacia la derecha como se pasan las páginas de un libro tira del pulmón izquierdo, mientras en el retorno venoso pulmonar anómalo las venas pulmonares izquierdas desembocan en la aurícula derecha que actúa como eje de rotación, no se produce arrastre del pulmón y el corazón gira libremente en lo que se ha llamado "corazón que baila".
- La AD es la primera cavidad en ser abierta. Se corta la pared posterior a través de la línea que une los orificios de ambas venas cavas. La prolongación del corte hacia la vena cava superior debe permitir identificar la vena innominada situada por delante de la tráquea. Su ausencia indica **persistencia de vena cava superior izquierda**. La presencia de una vena ácigos debe hacer sospechar una **interrupción de la vena cava inferior**.
- A continuación, se abre el borde anterior de la orejuela derecha sobre la unión AV hasta llegar a la punta. Esto permite explorar el interior de la cavidad auricular incluyendo la porción venosa, el vestíbulo, el septo interauricular y la orejuela.
- Con la aurícula derecha abierta se debe examinar el septo interauricular. El agujero oval normal debe ser permeable en sentido hacia la aurícula izquierda. Existe una **comunicación interauricular (CIA)** del tipo **ostium secundum** cuando no se identifica el **septum secundum** que cubre la vertiente izquierda del agujero oval o este tiene defectos que lo hacen permeable. En el **cierre prematuro del agujero oval** no se encuentra comunicación con la AI.
- Bajo el agujero oval se puede hallar una **CIA** tipo **ostium primum**. Un pequeño tracto fibroso separa ambos orificios.
- El seno coronario desemboca en la parte posteroinferior del septo interauricular. Una desembocadura patente del seno coronario puede indicar:

1. una **vena cava superior izquierda persistente** que se demuestra mediante la permeabilización con sonda
  2. una **CIA tipo seno coronario** que se demuestra permeabilizando el seno coronario y demostrando que este comunica con la aurícula izquierda. Puede coincidir con la **vena cava superior izquierda persistente**
- La **CIA tipo seno venoso** se encuentra junto al orificio de entrada de las venas cavas (generalmente la superior) y suele estar acompañado por un **retorno venoso pulmonar anómalo parcial**, en particular de la vena pulmonar superior derecha. Si la maniobra de Taussig ha resultado positiva, es el momento de confirmar el **retorno venoso pulmonar anómalo completo** mediante la exploración del trayecto de las venas pulmonares mediante una sonda.
  - La ausencia completa del septo interauricular da lugar a la **aurícula única** o **aurícula común** (*cor triloculare biventricularis*).
  - En el **canal aurículo-ventricular (CAV) persistente** es característico que desde la aurícula derecha se pueda acceder tanto al ventrículo derecho como al izquierdo y a la aurícula izquierda. El septo interventricular es corto y su borde superior recuerda la forma de una silla de montar. La menor longitud del septo interventricular se puede objetivar midiendo la distancia entre el ápex cardíaco y el borde superior del septo (la embocadura ventricular) y comparándolo con la distancia entre el mismo ápex y la válvula ventriculoarterial (la salida ventricular). En las formas completas las válvulas atrioventriculares se unen en una única válvula continua, compuesta por cinco valvas: dos murales derechas (anterosuperior e inferior), una mural izquierda y dos más, una superior y otra inferior que pasan sobre el defecto.
  - La base de la aurícula derecha debe coincidir con la tricúspide. La ausencia de paso hacia el ventrículo derecho es diagnóstica de una **atresia tricúspide** en un contexto de **corazón derecho hipoplásico**. En estos casos el ventrículo derecho suele ser atrésico a no ser que haya una **comunicación interventricular (CIV)**. En estos casos conviene detener la disección de las cavidades derechas y proseguir la disección de las cavidades izquierdas.
  - El VD se abre por la cara posterior mediante una sección que discurre paralela y pegada al septo interventricular. De este modo se preservan las valvas de la tricúspide ya que el corte debe pasar entre la valva septal y la posterior. Este corte debe alcanzar el ápex ventricular y permite el examen de la válvula tricúspide y del septo interventricular desde su aspecto derecho. Con el ventrículo derecho abierto por la cara posterior se debe revisar la inserción del velo de la válvula tricúspide y la integridad del septo interventricular.
  - La **anomalía de Ebstein** se caracteriza por una inserción baja del velo de la válvula tricúspide, es decir que la inserción no coincide con la unión atrioventricular. El segmento de pared ventricular situado por encima de la inserción está adelgazado, lo que se denomina atrialización del ventrículo.
  - Las **CIV musculares** suelen ser visibles desde el ventrículo derecho. Las **CIV perimembranosas** pueden permanecer ocultas por el velo septal de la tricúspide.
  - La ausencia de septo interventricular indica un **ventrículo único**. Este, o **ventrículo izquierdo con doble entrada** consiste en una cámara ventricular dominante con morfología de ventrículo izquierdo en el que desembocan ambas aurículas a través de sendas válvulas atrioventriculares, usualmente con morfología de válvulas mitrales con músculos papilares separados. Se acompaña de **TGA**. Suele haber una cámara rudimentaria con morfología de VD situada a la derecha, por delante y por encima del ventrículo izquierdo, conectado a la cámara dominante a través de un defecto interventricular que puede tener un tamaño variable. Con menor frecuencia el ventrículo único puede ser morfológicamente derecho o de tipo indeterminado. El **VD de doble entrada** se acompaña de un ventrículo izquierdo rudimentario, sobre los que puede haber un canal atrioventricular común y tanto la pulmonar como la aorta nacen del VD.
  - Desde el ápex ventricular la cara anterior del VD se abre mediante un corte que corre paralelo junto al septo interventricular hasta alcanzar la arteria pulmonar. Así se completa la exploración del septo interventricular. Se hacen visibles las **CIV subarteriales**. La estenosis del infundíbulo de salida del VD forma parte del **complejo de Fallot**.



- En la concordancia ventriculoarterial derecha la salida del VD se continua por la arteria pulmonar. En la **atresia pulmonar** se interrumpe la continuidad del trayecto entre el VD y la arteria pulmonar. El trayecto del origen de la arteria pulmonar es filiforme y las arterias pulmonares reciben la sangre a través del conducto arterioso o, alternativamente, los pulmones reciben su irrigación mediante **arterias colaterales aortopulmonares mayores** originadas en lugares distintos a los del conducto arterioso, generalmente en la aorta descendente. La **estenosis pulmonar** se acompaña de dilatación postestenótica del tronco de la pulmonar. Por ausencia de válvula pulmonar se entiende la ausencia de las valvas de la válvula pulmonar o su reducción a escasos rudimentos de tejido valvular en el anillo de la pulmonar. El tronco de la arteria pulmonar está dilatado, incluso con carácter de aneurisma. En la no concordancia ventriculoarterial derecha se pueden dar diversas situaciones:
  1. El VD vierte a un único vaso del que se originan tanto las arterias pulmonares como los vasos supraaórticos en la **persistencia del tronco arterioso común**.
  2. El VD se continua con la aorta en la **TGA**. Cuando en una transposición de los grandes vasos el ventrículo situado a la derecha se continua con la arteria pulmonar nos encontramos ante una **transposición corregida de las grandes arterias**. En realidad, en esta malformación existe una discordancia atrioventricular añadida a la ventriculoarterial. La AD conecta con un VI morfológico situado en el lado derecho del corazón y este, a su vez, conecta con la arteria pulmonar en discordancia ventriculoarterial situada por detrás de la aorta y saliendo en paralelo.
  3. El VD se abre tanto a la arteria pulmonar como a la aorta (que cabalga sobre una CIV) en el **complejo de Fallot** (CIV, estenosis del infundíbulo de la pulmonar y cabalgamiento aórtico sobre la CIV. La tetralogía de Fallot se limita a una trilogía en el feto). Cuando el cabalgamiento aórtico sobre el VD supera el 50% se considera un **ventrículo derecho de doble salida**.
- La **ventana aortopulmonar** es un defecto en el tronco principal de la pulmonar comunicando con la aorta ascendente. La arteria pulmonar se divide en arteria pulmonar derecha, arteria pulmonar izquierda y conducto arterioso. El corte debe seguir a la pulmonar derecha. Una **arteria pulmonar izquierda aberrante** ocurre cuando esta se origina de la rama derecha y pasa sobre el bronquio principal y tras la tráquea para dirigirse al pulmón.
- Prolongando el corte desde el tronco principal de la pulmonar se abre el conducto arterioso y desde ahí la aorta descendente. El conducto arterioso se cierra funcionalmente tras el nacimiento, aunque situaciones de hipoxia lo pueden mantener inadecuadamente abierto. En la autopsia, el cierre fisiológico del conducto arterioso no se aprecia macroscópicamente hasta una semana o diez días después del nacimiento. En el **cierre prematuro del conducto arterioso** el conducto arterioso puede estar contraído pero permeable anatómicamente. La superficie endotelial se ve deslustrada y arrugada. La presencia de trombosis ayuda mucho al diagnóstico. La **ausencia aislada del conducto arterioso** produce una dilatación marcada de los troncos de las arterias pulmonares derecha e izquierda. El conducto arterioso puede faltar en las **CIV** con cortocircuito de derecha a izquierda.
- La exploración del corazón izquierdo se inicia cortando entre la orejuela y la porción venosa de la AI en el plano frontal. El corte progresa hacia delante para abrir el borde anterior de la orejuela izquierda hasta la punta. En la pared posterior están las venas pulmonares: las izquierdas se abren directamente y las derechas se exploran (al menos) mediante una sonda para comprobar su origen en el pulmón derecho. Con la AI abierta se puede confirmar la existencia de una **CIA tipo seno coronario** pasando una sonda desde la desembocadura del seno coronario en la AD que se introduce en la AI.
- En la base de la AI se encuentra normalmente la válvula mitral. La imposibilidad de acceder al VI a través de la misma es diagnóstica de **atresia mitral** en el contexto de **hipoplasia del corazón izquierdo**. En estos casos la cavidad ventricular está sustituida por una masa de miocardio trabeculado y se acompaña de **atresia aórtica**. Cuando la mitral es hipoplásica pero patente hay una cavidad ventricular pequeña con fibroelastosis endocárdica (FEE): el endocardio es firme al tacto y blanco brillante, aspecto que se acentúa tras la fijación en formol. Se encuentra cavidad ventricular con atresia mitral cuando existe una **CIV**. En el **corazón izquierdo hipoplásico** la AI es pequeña.

- El VI se abre por su borde libre lateral hasta alcanzar el ápex cardíaco y, desde allí, se progresa por la cara anterior junto al septo interventricular y paralelo a este hasta alcanzar la aorta. Con el VI abierto se aprecian las CIV. Las **CIV perimembranasas** se aprecian mejor desde el aspecto izquierdo, hasta el punto de “descubrir” una CIV que habría pasado desapercibida durante la disección del lado derecho. La fibroelastosis endocárdica también se asocia con la **estenosis aórtica**.
- Como las salidas de la aorta y de la pulmonar se encuentran cruzadas en el corazón normal hay que separar mediante disección roma los infundíbulos de salida de ambas arterias. La abertura de la aorta se debe hacer pasando por debajo del tronco de la pulmonar. En las ocasiones en que no se dispone de espacio para maniobrar entre las arterias se puede seccionar el tronco de la pulmonar al abrir la aorta. En estos casos conviene dar un corte transversal al trayecto de la pulmonar, en la zona media del trayecto del tronco principal de la pulmonar. Así se preservan la válvula pulmonar a un lado y las ramas de la pulmonar y el conducto arterioso al otro. El trayecto de salida del VI en concordancia ventriculoarterial se continua por la válvula aórtica y la arteria aorta. La imposibilidad de progresar a través de la válvula aórtica es diagnóstica de **atresia aórtica**. La válvula está sustituida por una membrana en forma de cúpula o bien no se encuentra tejido valvular. Con las dos válvulas ventriculoarteriales abiertas se pueden valorar sus dimensiones. En condiciones normales no debe haber una diferencia superior a un 25% entre ambas. El estrechamiento segmentario (más o menos prolongado) de la aorta es diagnóstico de **coartación de aorta**. Su localización puede ser preductal o postductal. La tracción de la aorta expone la coartación en los casos de difícil disección. Si se sospecha una coartación de la aorta es mejor abrir la aorta en su totalidad desde la raíz en lugar de hacerlo a través del conducto arterioso. El istmo aórtico (el segmento entre la salida de la arteria subclavia izquierda y la entrada del conducto arterioso) es normalmente más estrecho que el resto de la aorta y esto no debe confundirse con una coartación.
- La exploración de la aorta se completa mediante la abertura del cayado hasta alcanzar la aorta descendente que se había abierto a partir del conducto arterioso. El arco aórtico sigue un trayecto que lo lleva hacia la izquierda para superar por encima al bronquio principal izquierdo. En el **arco aórtico derecho**, el trayecto se dirige a la derecha para superar por encima al bronquio principal derecho. Puede haber un **arco aórtico doble** cuyos trayectos rodean a la tráquea.
- En la **atresia del arco aórtico**, o **interrupción del arco aórtico**, no se encuentra continuidad entre los dos segmentos de aorta situados a cada extremo del segmento atrésico. La aorta distal se continua desde el conducto arterioso y no muestra ningún orificio que la conecte con el segmento aórtico previo. El hallazgo del origen de un cuarto vaso supraaórtico indica una **arteria subclavia derecha aberrante** que, en lugar de originarse en el tronco braquiocefálico se origina directamente del cayado aórtico más allá de la subclavia izquierda y se dirige a la derecha del cuerpo por un trayecto retrotraqueal o retroesofágico. Si se ha practicado la evisceración según la técnica de Letulle hay que tener precaución de no cortarla inadvertidamente durante la disección del esófago o de la tráquea.
- Tras separarlo de los pulmones se determina la masa cardíaca que fundamentalmente recoge la masa miocárdica. Determinar esta masa después de la apertura del corazón y no antes es importante para evitar que el contenido en sangre de las cavidades cardíacas altere el resultado. Este tipo de apertura permite medir los perímetros valvulares. Se miden los perímetros y no los diámetros porque en la pieza anatómica la pérdida de las fuerzas de tensión que contribuían a mantener la configuración del corazón lleva a un colapso de las estructuras, en particular los anillos valvulares. Para medir el grosor de las paredes ventriculares se practica una sección siguiendo el plano transversal al eje longitudinal del corazón y por ende al septo interventricular.
- **Cuando el corazón es demasiado pequeño** para practicar la disección descrita, una buena alternativa es la práctica de dos secciones paralelas al septo interventricular cada una de las cuales pasa por el centro de las válvulas AVes. Así se obtienen tres piezas, de las que la central contiene la mayoría de estructuras que deben ser exploradas: los septos interventricular e interauricular y la unión AV, los infundíbulos de salida de ambos ventrículos y las válvulas ventriculoarteriales íntegras, amén de los troncos de la aorta y los vasos supraaórticos, la pulmonar y el conducto arterioso. En esta pieza se encuentra también la

valva septal de la tricúspide, lo que es importante para determinar la lateralidad ventricular. Las otras dos piezas recogen la parte restante de las válvulas AVes y las paredes laterales de ambos ventrículos y ambas aurículas. Es importante disponer de una lupa para poder orientar correctamente la pieza y así obtener los cortes deseados.

- En **fetos pequeños** se puede plantear el estudio mediante secciones del tronco transversas al eje mayor del feto que se procesan para su estudio histológico. En estos casos, las secciones que interesan al corazón siguen un plano similar al plano de cuatro cámaras usado en ecocardiografía fetal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. van der Linde, D., Konnings, E.E.M., Slager, M.A., et al Birth prevalence of congenital heart disease worldwide. A systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 2241-7.
2. Nadal, A., Martínez, J.M. Embriogénesis y anatomía normal del corazón en Galindo, Gratacós y Martínez: *Cardiología fetal*. 2015 Marbán Libros. 7-15.
3. Nadal, A., Martínez, J.M. Embriogénesis y anatomía anormal del corazón en Galindo, Gratacós y Martínez: *Cardiología fetal*. 2015 Marbán Libros. 16-37.
4. Clark, E.B. Development of the heart and classification of congenital heart disease en Gilbert-Barness: *Potter's Pathology of the Fetus, Infant and Child*, 2nd ed. 2007 Mosby Elsevier. 969-977.
5. Gilbert-Barness E. y Debich-Spicer, D. Congenital malformations of the heart en Gilbert-Barness: *Potter's Pathology of the Fetus, Infant and Child*, 2nd ed. 2007 Mosby Elsevier. 978-1023.
6. Gilbert-Barness E. Cardiovascular disorders en Gilbert-Barness: *Potter's Pathology of the Fetus, Infant and Child*, 2nd ed. 2007 Mosby Elsevier. 1024-1072.
7. Ashworth, M.T. The cardiovascular system en Keeling J y Khong T Eds: *Fetal and Neonatal Pathology* 4th ed. 2007, Springer-Verlag. London, UK. 571-621.
8. Pérez Candela, V. e Hidalgo Rodríguez, A. Arteria pulmonar izquierda aberrante. *Canarias Pediátrica* 2011, 35: 55-57.
9. Sheaff, M.T. & Hopster, D.J. *Post mortem technique handbook*. 2<sup>nd</sup> ed. 2005, Springer-Verlag. London, UK.



# Biopsia pulmonar pediátrica

Joan Carles Ferreres<sup>1</sup>, Alexandra Navarro<sup>2</sup>, Marta Garrido<sup>2</sup>, Jessica Camacho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Parc Taulí Hospital Universari, Universitat Autònoma de Barcelona, I3PT Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí, Sabadell (Barcelona).

<sup>2</sup> Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

Las enfermedades pulmonares intersticiales pediátricas o, mejor aún, las enfermedades pulmonares difusas pediátricas, dado que no solamente afectan el intersticio sino que suelen afectar a las estructuras alveolares (chILD: children's interstitial lung disease o DPLD: diffuse parenchymal lung disease, en sus acrónimos en inglés) son un grupo heterogéneo de enfermedades raras, asociadas a importante mortalidad y morbilidad. Algunas de ellas, especialmente las que debutan en los dos primeros años de vida, tienen lugar específicamente durante la infancia. Por este motivo son poco conocidas por los patólogos generales e incluso por patólogos expertos en patología pulmonar del adulto. La necesidad de llegar al diagnóstico correcto a partir de una exploración muy agresiva como es la realización una biopsia pulmonar quirúrgica (abierta o asistida por videotoracoscopia), justifica el que exista una Guía de Práctica Clínica en relación al manejo de estas biopsias.

Hasta hace aproximadamente una década, estas enfermedades eran estudiadas y tratadas bajo la óptica del conocimiento (y clasificación) de las enfermedades pulmonares intersticiales en pacientes adultos, si bien en los últimos 25 años en la literatura había aparecido un constante goteo de descripciones de entidades caracterizadas por presentarse exclusivamente en pacientes pediátricos (neumonitis intersticial celular, neumonitis crónica de la infancia, déficit de proteína B del surfactante, déficit de proteína C, glucogenosis intersticial celular, déficit de ABCA3, hiperplasia de células neuroendocrinas –en orden de aparición-). Este paradigma cambia en 2007 cuando se publica un trabajo colaborativo de once hospitales norteamericanos en el que revisan todas las biopsias pulmonares de pacientes de menos de 2 años de edad y proponen una nueva clasificación de las chILD (1)(Tabla 1). Esta clasificación rápidamente es adoptada por autores individuales con gran experiencia en este campo (2) y en publicaciones en las que se aplica a todo el rango de edad pediátrica (3), donde se pone en evidencia la necesidad de adaptarla a la patología de niños de mayor edad. Una publicación reciente, también fruto de un trabajo colaborativo de prácticamente los mismos centros, aplica el esquema de la clasificación de chILD en pacientes de entre 2 y 18 años (4)(Tabla 2), observando que en este grupo de edad existe solapamiento en una pequeña proporción de casos con entidades propias de la infancia y en una mayor proporción con patología presente en el adulto, con un importante peso de las enfermedades asociadas a inmunosupresión. Si bien no existe un consenso absoluto sobre la clasificación de estas enfermedades, sí que hay coincidencia en agruparlas de acuerdo con sus causas y con el conocimiento actual de su etiopatogenia, tal como plasman numerosos artículos de revisión aparecidos recientemente (5,6,7), una guía clínica auspiciada por la American Thoracic Society (8), otra por el chILD-EU Collaboration (9) y una reciente revisión sistemática de la literatura (10).

En conjunto este grupo de enfermedades tiene una incidencia baja, de entre 0.36 a 16,2 casos/100.000 niños < 17 años/año (10). Entre las distintas enfermedades que constituyen las chILD existe un importante grado de solapamiento clínico, y también con enfermedades más frecuentes en la edad pediátrica, que deben ser las primeras a ser descartadas (infecciones pulmonares, cardiopatías congénitas, fibrosis quística, inmunodeficiencias primarias o adquiridas, displasia broncopulmonar, discinesia ciliar, aspiración recurrente...)(8). El diagnóstico clínico de sospecha de chILD se realiza, habiendo descartado las patologías anteriores, en los casos en que se presentan al menos 3 de los siguientes hechos:

- a) Síntomas respiratorios –tos, disnea o intolerancia al ejercicio-
- b) Signos respiratorios –taquipnea, auscultación patológica, sobreesfuerzo respiratorio, acropaquias, fallo de medro, fallo respiratorio
- c) Hipoxia
- d) Imágenes patológicas difusas en la radiografía de tórax o en la TAC.

También hay que plantearse en los casos de neonatos o lactantes con enfermedades más frecuentes antes mencionadas, pero con severidad de la afectación respiratoria desproporcionada para el diagnóstico. Las chILD pueden ser de debut tan precoz como las primeras horas de vida, o hacerlo, en cambio, a lo largo de toda la infancia y adolescencia. Incluso algunas de ellas (mutaciones de proteína C del surfactante o de ABCA3, por ejemplo) pueden debutar en la vida adulta como causa de fibrosis pulmonar idiopática.

Como en otros campos de la medicina, recientemente se ha avanzado notablemente en el diagnóstico genético de algunas de las enfermedades incluidas en las chILD, por lo que determinados estudios de mutaciones permiten llegar al diagnóstico de certeza y deben ser incorporados de rutina (en especial las mutaciones relacionadas con las proteínas del surfactante SP-B y SP-C, ABCA3 y TTF1 -mutaciones de NKX2.1) (revisado en 11, Tabla 3). Actualmente el coste, la necesidad de realizarlos secuencialmente y el tiempo dilatado de respuesta aún justifican que la biopsia pulmonar sea el paso previo.

La biopsia pulmonar constituye la prueba diagnóstica más importante pero a la que no necesariamente es imprescindible llegar. La combinación de los datos clínicos con las pruebas funcionales y especialmente las radiológicas (radiología simple y TAC de alta resolución –TACAR-) permite, en algunos casos, realizar el diagnóstico con suficiente fiabilidad. Otras exploraciones necesarias en el estudio de las ChILD son la ecocardiografía (para descartar anomalías estructurales cardíacas y valorar la existencia de hipertensión pulmonar) y la fibrobroncoscopia que permitirá descartar anomalías en la vía aérea y la realización de lavado broncoalveolar (BAL). Como ya se ha comentado, en la medida que se universalicen los estudios genéticos, en otro grupo importante de pacientes podrá evitarse la realización de la biopsia pulmonar, aunque actualmente el patrón morfológico observado en la biopsia puede orientar la secuencia de estudios genéticos a realizar y, por otro lado, aporta una inmediatez de resultados que no es posible aún en estos estudios. Por todo ello, hoy por hoy, el valor de la biopsia pulmonar, en manos expertas, es aún incuestionable.

## II. INFORMACIÓN DIAGNÓSTICA

Para la adecuada interpretación de una biopsia pulmonar, es imprescindible disponer de la máxima información clínica y radiológica, así como conocer la localización de la biopsia para poder correlacionar sus hallazgos con los radiológicos. Dado que no siempre los patólogos tenemos conocimientos suficientes para interpretar esta información, el contexto ideal es trabajar de forma estrecha con el pediatra / neumólogo pediátrico y el radiólogo y compartir con ellos la impresión de lo observado en la biopsia antes de realizar el informe definitivo. En algunas entidades el conocimiento de la existencia de clínica no respiratoria puede ser crucial para orientar el diagnóstico (alteraciones neurológicas e hipotiroidismo en la disregulación de TTF1 por mutación de NKX2.1, por ejemplo).

### III. CITOLOGÍA (BAL). BIOPSIA INTRAOPERATORIA. BIOPSIA BRONCOSCÓPICA / TRANSBRONQUIAL

El papel de la citología en patología intersticial pulmonar pediátrica está limitado al lavado bronquioalveolar, BAL, exploración que en algunas situaciones aporta información relevante e incluso diagnóstica (realización de estudios microbiológicos para confirmar/descartar infección, diagnóstico morfológico de proteinosis alveolar, síndromes hemorrágicos, de infección por *Pneumocystis jiroveci* y otras infecciones fúngicas y víricas) u orientativa (composición celular en alveolitis alérgica, histiocitosis de células de Langerhans, enfermedad eosinofílica pulmonar, alteraciones de la relación CD4/CD8 en sarcoidosis, algunas enfermedades de depósito...)(8). La cuantificación de las proteínas del surfactante en el BAL tiene un valor limitado (11).

La aportación de la biopsia intraoperatoria se limita en los casos en los que existen lesiones focales, que no suele ser la situación de la patología intersticial. En nuestra experiencia, únicamente en casos de patología infecciosa (neumonitis por *Pneumocystis jiroveci* o infecciones por hongos filamentosos) la realización de impresos del material recibido en fresco, ha permitido el diagnóstico intraoperatorio de patología relevante.

Como norma general, las biopsias obtenidas por procedimientos endoscópicos (broncoscópica y transbronquial) únicamente obtienen material suficiente en lesiones endobronquiales y, en cambio, obtienen escasa representación del parénquima que rodea la vía aérea, por lo que no suelen ser útiles en patología intersticial, salvo en la valoración de rechazo e infecciones en los injertos pulmonares. No hay experiencia en el uso de criobiopsia pulmonar en pacientes de corta edad.

### IV. PROTOCOLO MACROSCÓPICO: MANEJO DE MUESTRAS, DATOS MÍNIMOS DE DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA, PROTOCOLO DE TALLADO, TOMA DE MUESTRAS (9,12,13)

#### Indicaciones de la biopsia

- Sospecha de enfermedad intersticial pulmonar, a la que no se haya llegado al diagnóstico mediante otras técnicas. Idealmente debería realizarse antes de iniciar cualquier tratamiento que pueda modificar el sustrato morfológico de la enfermedad.

#### Contraindicaciones relativas

- Enfermedad muy severa y difusa, que sugiera estadio final (la biopsia posiblemente no aportará información diagnóstica).
- Paciente en situación de fallo respiratorio grave y otras complicaciones multiorgánicas, tratamiento inmunosupresor o con esteroides a altas dosis.
- Paciente en situación próxima a necesitar ventilación mecánica, es posible que la precise después del procedimiento.

#### Complicaciones

- Las de cualquier procedimiento quirúrgico: neumotórax, hemorragia, infección de la herida quirúrgica, necesidad de intubación prolongada, neumonía.
- El riesgo aumenta con inmunosupresión y si hay insuficiencia respiratoria previa.

#### Técnica quirúrgica

- Biopsia pulmonar abierta por minitoracotomía.
- Biopsia pulmonar por videotoracoscopia (procedimiento recomendado).
- Es responsabilidad del patólogo informar al cirujano pediátrico o torácico de la importancia de la cuidadosa manipulación de la muestra y de que conozca en qué condiciones debe ser remitida al servicio de Anatomía Patológica, así como también los puntos siguientes.
- Se recomienda realizar la biopsia únicamente en centros donde ésta pueda ser procesada correctamente (la comunicación con el equipo quirúrgico es básica).
- Es importante biopsiar las áreas de pulmón que sean representativas de la enfermedad, especialmente en

el caso de afectación no uniforme. En general, las muestras de llingula y del extremo superior del lóbulo medio derecho son poco adecuadas porque magnifican la patología y deben evitarse. Como norma general se obtendrán dos muestras de tejido pulmonar de áreas con distinta intensidad de afectación. Por ello, el sitio de la biopsia se decidirá preoperatoriamente en base a técnicas radiológicas recientes (TACAR) para asegurar que las áreas patológicas serán las biopsiadas.

- El tamaño de la biopsia debe ser, como mínimo, de 10 x 10 x 10 mm, evitando el ápex de los lóbulos. Biopsias más superficiales (de menos de 10 mm de profundidad) pueden no contener representación de vía aérea y llevar a un error de interpretación.
- Para el diagnóstico de infección, debe enviarse separadamente una muestra en fresco al servicio de microbiología. Si se han utilizado grapas quirúrgicas, se puede utilizar el tejido procedente del recorte de las grapas para este fin.
- La/s muestra/s **deben enviarse sin fijar al servicio de Anatomía Patológica**, adecuadamente identificadas (datos del paciente, localización del sitio de la biopsia) y en un recipiente estéril.

### Manejo de las muestras

- Medir las 3 dimensiones de la muestra y describir las alteraciones que se observen en la pleura y el aspecto del parénquima.
- Si no se ha enviado material a microbiología desde quirófano, recortar las grapas y enviar el tejido atrapado por las mismas en un recipiente estéril.
- Seccionar de forma perpendicular a la superficie pleural por un lateral, y de esta tira de tejido fijar diversos fragmentos de 1 mm en glutaraldehído, y congelar el resto de este fragmento que se ha seccionado, conservándolo a -70°C. Si se dispone, reservar un fragmento en solución para preservación de ARN.
- Realizar improntas citológicas de la superficie cruenta que se ha creado.
- Fijar el resto en formaldehído al 4% (formol). Conseguir una expansión adecuada del tejido es el paso clave para obtener unas secciones histológicas óptimas. Existen dos formas de conseguir esta adecuada expansión del espacio aéreo:
  - a) inyectar formol con una aguja de insulina o de tuberculina, puncionando desde la superficie pleural y ejerciendo mínima presión. Se consigue una buena expansión pero hay riesgo de provocar artefactos "tipo linfangiectasias" o "limpiar" el contenido alveolar.
  - b) alternativa menos agresiva (utilizada de preferencia en nuestro hospital): una vez retiradas las grapas, es decir, cuando existe una superficie cruenta amplia, introducir la muestra en formaldehído y **agitar enérgicamente el recipiente durante 1-2 minutos**. Esta forma funciona bien si la muestra se ha recibido sin fijar, pero es poco efectiva en los casos en los que el material llega fijado.
- Si el material se recibe fijado (situación no deseable), con su borde cerrado con grapas, es mejor no intentar su expansión, pero no podremos evitar el artefacto de aplastamiento de la muestra en algunas áreas, lo que dificultará su interpretación.
- Una vez que el tejido que hemos expandido está ya fijado, realizar secciones paralelas, perpendiculares a la superficie pleural, intentando lograr la máxima superficie de sección posible. Se procesará la totalidad del material fijado en formol (inclusión total).

## V. ESTUDIO MICROSCÓPICO

Como en todas las biopsias pulmonares por patología funcional, se valorarán los distintos compartimentos representados en la biopsia (vasos, vía aérea, intersticio, revestimiento neumocitario y espacio alveolar, pleura...) y se valorará también la arquitectura pulmonar en su conjunto (especialmente en recién nacidos y lactantes, para considerar los trastornos del desarrollo y del crecimiento pulmonar). Para ello, además de la tinción de hematoxilina-eosina se utilizarán de forma rutinaria distintas técnicas y se ampliarán en función de la sospecha clínica y de la morfología observada. Es de interés hacer constar en el informe si se considera la muestra adecuada para diagnóstico.



El objetivo de la biopsia pulmonar es describir el patrón lesional de forma que permita encuadrar la patología del paciente en alguna de las entidades reconocidas. Además del diagnóstico, la biopsia aportará información sobre el grado de afectación, dato con valor pronóstico. Las tablas 1 y 2 recogen la clasificación de enfermedades intersticiales en la infancia. En la clasificación propuesta se tienen en cuenta también datos clínicos (cromosopatías, estatus de inmunocompetencia o inmunosupresión, o concomitancia con enfermedades sistémicas). En el caso de que los hallazgos morfológicos observados no permitan clasificar la entidad, siempre es mejor “no forzar” el diagnóstico y limitarse a indicar las alteraciones observadas. Esta situación se suele deber a que la muestra recibida no es suficientemente representativa de la lesión o bien a que los artefactos de obtención y manipulación de la muestra enmascaran los hallazgos diagnósticos.

#### **Técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas utilizadas de rutina en el Servicio de Anatomía Patológica del HUVH.**

- Tricómico.
- Tinción de fibras elásticas.
- Actina de músculo liso (valoración de vasos, músculo bronquial, y presencia de componente miofibroblástico en el intersticio).
- CD31 o CD34 (valoración de la densidad y disposición de los capilares en los casos de patología del desarrollo).

#### **Técnicas adicionales en función de la sospecha diagnóstica o a partir de la valoración de la H&E**

- PAS y PAS diastasa (si sospecha de infección fúngica o si se observa ocupación alveolar por material tipo proteinosis; valoración de glucogenosis intersticial pulmonar en neonatos y lactantes)
- Tinción de Perls (si en la H&E se detecta presencia de hemosiderina).
- Citoqueratina (cóctel o CK7) para evidenciar el revestimiento neumocitario en casos de hiperplasia del mismo, o para valorar el engrosamiento de los septos alveolares (delimita mejor el intersticio de los septos). También es útil en los casos de marcado artefacto de aplastamiento, para valorar si se trata de engrosamiento septal o únicamente de alveolos colapsados.
- CD68 si se plantea la necesidad de distinguir macrófagos alveolares de otro tipo de celularidad.
- D2-40 si se plantea la necesidad de distinguir vasos linfáticos de venas en localización peribronquial/peribronquiolar (displasia alveolocapilar con mala alineación venosa).
- Bombesina (o alternativamente sinaptofisina) en el caso de sospecha de hiperplasia de células endocrinas de la infancia.
- CD1a si hay sospecha de histiocitosis de células de Langerhans.
- Determinación inmunohistoquímica de proteína A del surfactante (SP-A) y proteína B del surfactante (SP-B), así como los precursores de la proteína B (ProSP-B) y C (ProSP-C) pueden ser útiles para orientar un posible déficit y dirigir el estudio genético.
- Ante sospecha de infección, orientado por la H&E, el contexto clínico (inmunosupresión o no) y la sospecha clínica: Ziehl-Neelsen, plata metenamina-Grocott, PAS, PAS diastasa; inmunohistoquímica para CMV, herpes virus, adenovirus; hibridación in situ (EBER) para virus Epstein-Barr y CMV; técnicas moleculares disponibles (PCR para virus, para otros microorganismos).
- Microscopía electrónica: la observación de anomalías en los cuerpos lamelares, o su ausencia, puede orientar al tipo de mutación en los casos de disfunción del surfactante. También puede ser de utilidad en casos de enfermedades de depósito.

Está fuera del objetivo de esta Guía Clínica el sentar las bases morfológicas para el diagnóstico histológico de estas enfermedades. Existen numerosas revisiones recientes (1-8) así como una propuesta de aproximación al diagnóstico histológico basada en algoritmos también de reciente publicación (14). Si se desea ampliar información sobre los aspectos genéticos de algunas de estas enfermedades así como sobre los horizontes de investigación en este campo existen también revisiones recientes (15,16).

La información obtenida de la biopsia, integrada adecuadamente en su contexto clínico, permitirá en algunas situaciones realizar un tratamiento más específico, en otras aportará el diagnóstico pero posiblemente el tratamiento sintomático no se verá modificado y en otras evitará tratamientos empíricos no efectivos. En algunos casos hará posible un adecuado consejo genético para futuras gestaciones. Incluso habrá casos excepcionales en los que comportará la limitación del esfuerzo terapéutico (y por tanto facilitará la muerte del paciente) o abrirá la posibilidad de indicar terapias tan agresivas como el trasplante pulmonar. Por todo ello, estas biopsias suelen ir acompañadas de una “especial presión” por parte de los clínicos que debe entenderse y que hay que saber gestionar.

### **Bibliografía:**

1. Deutsch GH, Young LR, Deterding RR *et al.* Diffuse lung disease in young children, Application of a novel classification scheme, *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:1120-8.
2. Langston C, Dishop MK. Diffuse lung disease in infant: a proposed classification applied to 259 diagnostic biopsies. *Pediatr Dev Pathol* 2009;12:421-37.
3. Rice A, Tran-Dang M-A, Busch A, Nocholson AG. Diffuse lung disease in infancy and childhood: expanding the chILD classification. *Histopathology* 2013;63:743-55.
4. Fan LL, Dishop MK, Galambos C *et al.* Diffuse lung disease in biopsied children 2 to 18 years of age. Application of the chILD Classification Scheme. *Ann Am Thorac Soc* 2015;12: 1498-505.
5. Clement A, Nathan N, Epaud R *et al.* Interstitial lung diseases in children. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:22.
6. Dishop MK. Paediatric interstitial lung disease: classification and definitions *Paediatr Respir Rev* 2011;12:230-7.
7. Kuo CS, Young LR. Interstitial lung disease in children. *Cur Opin Pediatr* 2014;26:320-7.
8. Kurland G, Deterding RR, Hagood JS *et al.* An official American Thoracic Society clinical practice guideline: classification, evaluation, and management of childhood interstitial lung disease in infancy. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188:376-94.
9. Bush A, Cunningham S, de Blic J *et al.* European protocols for the diagnosis and initial treatment of interstitial lung disease in children. *Thorax* 2015;70:1078-84.
10. Hime NJ, Zuryski Y, Fitzgerald D *et al.* Childhood interstitial lung disease: a systematic review. *Pediatr Pulmonol* 2015;50:1383-92.
11. Gupta A, Zheng SL. Genetic disorders of surfactant protein dysfunction: when to consider and how to investigate. *Arch Dis Child* 2016;0:1-7. doi:10.1136/archdichild-2012-303143).
12. Langston C, Patterson K, Dishop MK *et al.* A protocol for the handling of tissue obtained by operative lung biopsy: recommendations of the chILD Pathology Co-operative Group. *Pediatr Dev Pathol* 2006;9:173-80.
13. European Management Platform for Childhood Interstitial Lung Diseases. Best practice checklist: Surgical lung biopsy protocol. <http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Child-EU/download/en/care/checklist/SOP-Pathology-and-Biopsy.pdf> (consultado el 18/12/2016)

14. Armes J, Mifsud W, Ashworth M. Diffuse lung disease of infancy: a patern-based, algorithmic approach to histological diagnosis. *J Clin Pathol* 2015;68:100-10.
15. Kitizawa H, Kure S. Interstitial lung disease in chilhood: clinical and genetic aspects. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med.* 2015;9(Suppl 1):57-68.
16. Deterding RR. Children's interstitial and diffuse lung disease. Progress and future horitzons. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12:1451-7

**Enlaces de interés:**

1. [http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Child-EU/en/about\\_child-eu/index.html](http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Child-EU/en/about_child-eu/index.html) (chILD-EU. European Management Platform for Childhood Interstitial Lung Diseases).
2. <http://www.lungmap.net> (base de datos/recursos para la investigación de procesos que regulan el desarrollo pulmonar).
3. <https://www.rarediseasesnetwork.org> (red de investigación de enfermedades raras que incluye diversos consorcios para el estudio de enfermedades pulmonares).
4. <http://www.genetests.org> (listado de centros que realizan estudio genético -de mutaciones de las proteínas del surfactante y otras-).

**Tabla 1. Clasificación de las chILD en niños menores de 2 años (modificado de 1, 2 y 8)**

- I. Enfermedades propias de la infancia
  - a. Anomalías difusas del desarrollo pulmonar
    - i. Displasia acinar
    - ii. Displasia alveolar congénita
    - iii. Displasia alveolocapilar con mala alineación de venas pulmonares
  - b. Anomalías de crecimiento pulmonar
    - i. Hipoplasia pulmonar/simplificación alveolar
    - ii. Enfermedad pulmonar neonatal crónica
      - 1. Enfermedad pulmonar neonatal crónica relacionada con la prematuridad (displasia bronco-pulmonar)
      - 2. Enfermedad pulmonar crónica adquirida en nacidos a término
    - iii. Cambios pulmonares estructurales en cromosopatías
      - 1. Trisomía 21
      - 2. Otras
    - iv. Patología pulmonar asociada a cardiopatías congénitas en pacientes sin cromosopatía
  - c. Entidades específicas de etiología no definida
    - i. Glucogenosis intersticial pulmonar
    - ii. Hiperplasia de células neuroendocrinas de la infancia (taquipnea persistente de la infancia)
  - d. Enfermedades por defectos de la función del surfactante
    - i. Mutaciones de proteína B del surfactante (SPTB)(patrón de PAP u otros)
    - ii. Mutaciones de proteína C del surfactante (SPTC)(patrón dominante de CPI, también DIN y NSIP)
    - iii. Mutaciones de ABCA3 (patrón dominante de PAP, también de CPI, DIP y NSIP)
    - iv. Otras enfermedades con histología compatible con disfunción del surfactante sin alteración ge-nética conocida
  
- II. Enfermedades no específicas de la infancia
  - a. Alteraciones en pacientes inmunocompetentes
    - i. Infecciones y procesos post-infecciosos
    - ii. Enfermedades relacionadas con agentes ambientales: neumonitis por hipersensibilidad, inhalación de tóxicos
    - iii. Síndromes por aspiración
    - iv. Neumonía eosinofílica
  - b. Patología pulmonar relacionada con enfermedades sistémicas
    - i. Enfermedades inflamatorias inmunomediadas (enfermedades del colágeno, vasculitis...)
    - ii. Enfermedades de depósito
    - iii. Sarcoidosis
    - iv. Histiocitosis de células de Langerhans
    - v. Enfermedades neoplásicas infiltrativas
  - c. Alteraciones en pacientes inmunodeprimidos
    - i. Infecciones oportunistas
    - ii. Patología relacionada con efectos del tratamiento
    - iii. Patología relacionada con el trasplante pulmonar y rechazo
    - iv. Daño alveolar difuso de etiología desconocida
  - d. Patología pulmonar que puede simular enfermedad intersticial
    - i. Vasculopatía hipertensiva arterial
    - ii. Vasculopatía congestiva, incluida enfermedad veno-oclusiva

- iii. Alteraciones linfáticas
  - iv. Cambios congestivos relacionados con disfunción cardíaca
- III. No clasificadas (incluye enfermedad en estadio final, biopsias no diagnósticas y con material inadecuado).
- Abreviaturas: PAP: proteinosis alveolar pulmonar; CDI: neumonitis crónica de la infancia; DIP: neumonía intersticial descamativa; NSIP: neumonía intersticial no específica

**Tabla 2. Esquema de clasificación chILD en pacientes de 2 a 18 años de edad, basada en una serie de 191 biopsias (4)**

- I. Pacientes clínicamente inmunocompetentes
  - a. Enfermedades de la infancia
    - i. Anomalías del crecimiento pulmonar
    - ii. Hiperplasia de células neuroendocrinas de la infancia
    - iii. Mutación de ABCA3
  - b. Huésped inmunocompetente
    - i. Infecciones y procesos postinfecciosos
    - ii. Enfermedades relacionadas con agentes ambientales
    - iii. Síndromes por aspiración
    - iv. Neumonía eosinofílica
    - v. Neumonía intersticial aguda/Síndrome de Hamman-Rich/Daño alveolar difuso idiopático
    - vi. Hemosiderosis pulmonar idiopática
    - vii. Otros
  - c. Enfermedades sistémicas
    - i. Enfermedades inflamatorias inmunomediadas
    - ii. Enfermedades de depósito
    - iii. Sarcoidosis
    - iv. Otras
  - d. Patología vascular simuladora de chILD
    - i. Vasculopatía hipertensiva arterial
    - ii. Vasculopatía congestiva
    - iii. Linfangiomatosis
  - e. No clasificadas
    - i. Enfermedad en estadio final
    - ii. Biopsias no diagnósticas
- II. Pacientes clínicamente inmunodeprimidos
  - a. Con diagnóstico anatomopatológico no relacionado con inmunosupresión
    - i. Enfermedades específicas de la infancia
      - 1. Anomalías del crecimiento pulmonar
    - ii. Patología vascular simuladora de chILD
      - 1. Edema pulmonar
      - 2. Enfermedad tromboembólica
    - iii. No clasificadas
      - 1. Enfermedad en estadio final
      - 2. Biopsias no diagnósticas

3. Material inadecuado
4. Información insuficiente
- b. Con diagnóstico anatomopatológico relacionado con inmunosupresión
  - i. Infecciones oportunistas
    1. Pneumocystis jiroveci
    2. Infección fúngica
    3. Infección bacteriana
    4. Infección vírica
    5. Sospecha de infección
    6. Infección no especificada
  - ii. Patología relacionada con el tratamiento
    1. Quimioterápico
    2. Radioterápico
    3. Combinado
    4. Hipersensibilidad a fármacos
  - iii. Patología relacionada con el trasplante y rechazo
    1. Rechazo del injerto
    2. Enfermedad del injerto contra el huésped
    3. Enfermedad linfoproliferativa post-trasplante
  - iv. Daño alveolar difuso
  - v. Infiltración linfoide
    1. Linfoproliferación no específica
    2. Linfoproliferación con hiperplasia linfoide
    3. Infiltración con granulomas pobremente formados
    4. Linfoproliferación maligna

**Tabla 3. Genes implicados en patología pulmonar intersticial pediátrica que es posible estudiar actualmente, ordenados por periodo/edad de presentación de la patología relacionada.**

- FOXF1: displasia alveolocapilar con mala alineación venosa. Indicación de estudio en disfunción respiratoria neonatal con hipertensión pulmonar; puede asociarse a otras malformaciones.
- SFTPB: mutaciones de la proteína B del surfactante. Indicación de estudio en disfunción respiratoria neonatal/lactante.
- NKX2.1: mutaciones o deleciones de TTF-1. Si hipotiroidismo, hipotonía y alteraciones del movimiento; lactante y niño de edad escolar.
- ABCA3: mutaciones de la proteína ABCA3. Indicación de estudio en disfunción respiratoria neonatal/lactante/edad escolar con enfermedad lentamente progresiva.
- SFTPC: mutaciones de la proteína C del surfactante. Indicación de estudio en disfunción respiratoria neonatal/lactante /edad escolar con enfermedad lentamente progresiva.
- CSF2RA y CSF2RB: subunidades alfa y beta del receptor 2 del factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF). Indicación si patrón de proteinosis alveolar, en edad escolar.
- GATA2: mutaciones de GATA2. Proteinosis alveolar no asociada a disfunción de GM-CSF, en niños de cualquier edad y adultos.

# Enfermedad celiaca

Patricia Gómez Iglesias

*Hospital Universitario de Móstoles, Madrid.*

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

La enfermedad celiaca es un trastorno crónico inmunomediado en el que se produce una lesión en la mucosa del intestino delgado, en sujetos genéticamente predispuestos, desencadenada por la ingesta de cereales con gluten (trigo, cebada, centeno y avena). En la actualidad se considera una enfermedad multisistémica. La prevalencia se estima entre el 0,5 y el 1% de la población, aunque se sospecha que está infradiagnosticada. La expresión clínica y la edad de presentación son variables. El cuadro típico de la enfermedad es el de un niño de edad comprendida entre seis meses y dos años con diarrea crónica, fallo de medro y distensión abdominal. Algunas formas atípicas de presentación son la talla baja, anemia ferropénica, dermatitis herpetiforme, síntomas reumatológicos o trastornos neurológicos. El diagnóstico se realiza en sujetos con un cuadro clínico compatible, anticuerpos específicos (IgA antitransglutaminasa, antigliadina y antiendomiso) y demostración histológica de la lesión de la mucosa intestinal, así como remisión de los síntomas tras la retirada del gluten de la dieta. En casos de duda, el estudio genético del tipo de HLA es de utilidad, pues la ausencia de tipos HLA DQ2 ó DQ8 descarta el diagnóstico.

Es importante un diagnóstico de certeza, con confirmación histológica, previo a la instauración del tratamiento que consiste en la retirada del gluten de la dieta mantenido durante toda la vida del paciente. Las complicaciones sin tratamiento son las derivadas de la malabsorción intestinal (malnutrición, anemia ferropénica, osteoporosis), así como un mayor riesgo de desarrollar linfoma y adenocarcinoma intestinales.

## II. INDICACIÓN DE BIOPSIA DUODENAL:

Las indicaciones de esofagogastroduodenoscopia con toma de biopsia para estudio de enfermedad celiaca son la pérdida de peso de causa no explicada, fallo de medro, diarrea crónica, signos de malabsorción o anemia. Podemos reflejar estos datos clínicos así como el resultado de la serología en el informe final de anatomía patológica.

La recomendación en estos pacientes es realizar al menos una biopsia de la mucosa del bulbo duodenal y al menos cuatro de la segunda o tercera porciones duodenales, pues la afectación puede ser parcheada y escasa.

## III. PROTOCOLO MACROSCÓPICO.

Las muestras son remitidas al servicio de Anatomía Patológica en envases diferentes según la topografía, en una solución de formaldehído tamponado al 10%. Es importante la correcta orientación de los

fragmentos antes de su inclusión en parafina, para que los cortes sean perpendiculares a la superficie mucosa. Algunas guías recomiendan colocar los fragmentos sobre un filtro de acetato de celulosa (puede hacerlo el endoscopista al obtener la biopsia o el patólogo al recibirla, con o sin ayuda de un microscopio de disección). También son útiles los colorantes que tiñen con más intensidad el epitelio de superficie (la experiencia de nuestro servicio es que añadir unas gotas de hematoxilina facilita la orientación de las muestras).

#### IV. ESTUDIO MICROSCÓPICO.

En la enfermedad celiaca no hay una única lesión característica, sino un espectro de cambios histológicos, desde la mucosa normal a la atrofia vellositaria total, que pueden ser parcheados y de diferente intensidad en cada uno de los fragmentos estudiados.

El examen de los cortes histológicos debe ser sistemático para no olvidar ningún dato relevante. Podemos utilizar como guía estas preguntas:

- **¿Son los fragmentos adecuados para el diagnóstico?:**
  - Es necesario que los cortes sean perpendiculares a la mucosa y que podamos identificar al menos cuatro vellosidades completas.
- **¿Está conservada la arquitectura?:**
  - Se considera normal una relación vellosidad: cripta de 2:1 en el bulbo duodenal y entre 3:1 y 5:1 en las porciones segunda y tercera del duodeno.
  - En los pacientes con enfermedad celiaca podemos encontrar una arquitectura conservada, con disminución del ratio vellosidad: cripta (atrofia parcial) o una mucosa completamente aplanada (atrofia total).
- **¿Hay cambios en el epitelio?:**
  - El epitelio de las vellosidades puede tener cambios como pérdida de células caliciformes, aplanamiento o estratificación de los núcleos.
  - El epitelio de las criptas puede mostrar signos de hiperplasia: cambios regenerativos y más de una mitosis por cripta.
  - Linfocitos intraepiteliales (LIE), situados por encima de la membrana basal:
    - Se considera normal: menos de 25 linfocitos por 100 enterocitos con tinción de HE y menos de 20 por 100 enterocitos con CD3, distribuidos siguiendo un gradiente con predominio en la base de las vellosidades y más escasos en el extremo apical.
    - Borderline: entre 25 y 30 linfocitos por 100 enterocitos.
    - Aumentado: más de 30 linfocitos por 100 enterocitos, o bien una media en cinco vellosidades elegidas aleatoriamente, observando sólo la porción apical, superior a 6 linfocitos por 20 enterocitos.

La linfocitosis intraepitelial es uno de los primeros cambios histológicos en la mucosa de pacientes con enfermedad celiaca, aunque es poco específico. El uso de inmunotinción para CD3 facilita el recuento de linfocitos intraepiteliales y es aconsejable en todos los pacientes con sospecha de enfermedad celiaca, salvo que la imagen con hematoxilina-eosina no ofrezca dudas sobre el número elevado de linfocitos
- **¿Hay cambios en la membrana basal?:**
  - Se considera normal un espesor de 10 mm;
  - En la enfermedad celiaca de larga evolución sin tratamiento puede estar engrosada.
- **¿Hay cambios en la lámina propia?:**
  - En la enfermedad celiaca la celularidad suele estar aumentada y las células que predominan son linfocitos y células plasmáticas;
  - Si es llamativa la presencia de eosinófilos o de neutrófilos, especialmente si permean el epitelio, hay que valorar otras etiologías.



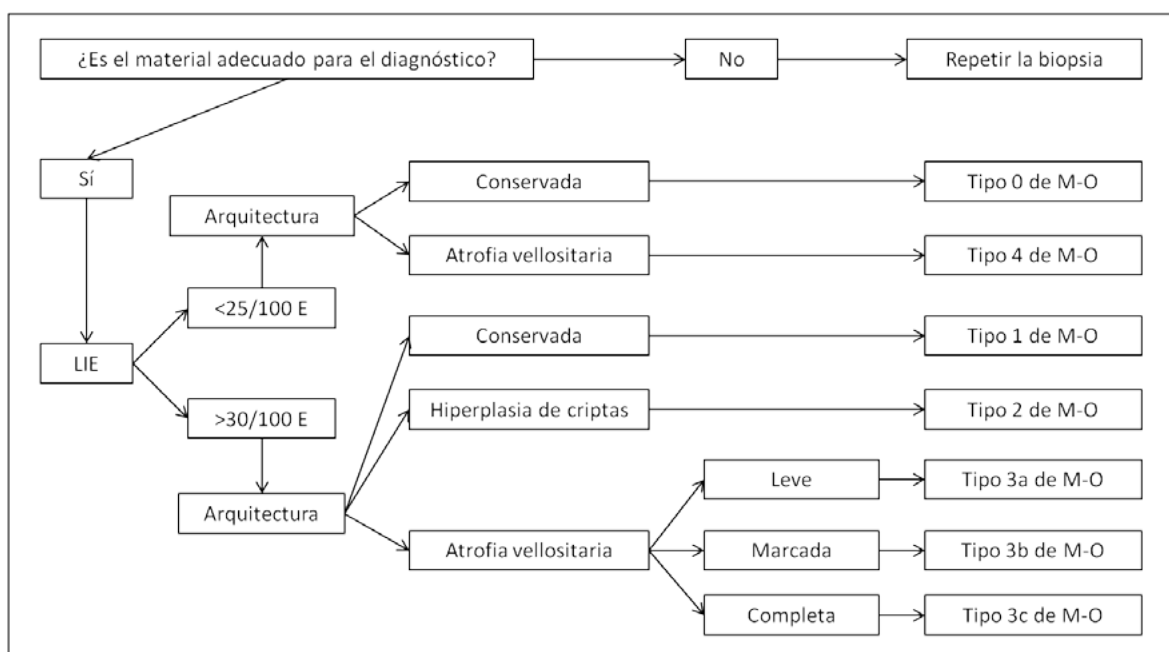
- **¿Hay microorganismos?:**

- Helicobacter pylori, trofozoítos de Giardia lamblia,
- Otros: micobacterias, virus, criptococo...

Si están presentes no se debe diagnosticar enfermedad celiaca, aunque encontremos cambios histológicos compatibles, hasta su tratamiento y erradicación.

**La clasificación de Marsh**, modificada en 1999 por Oberhuber, sigue siendo la utilizada para graduar los hallazgos histológicos y unificar los informes de anatomía patológica. Consta de cinco grupos:

- **Tipo 0** ("preinfiltrativo"): no se observan alteraciones de la arquitectura ni incremento de linfocitos intraepiteliales.
- **Tipo 1** ("infiltrativo"): no se observan alteraciones de la arquitectura y hay más de 30 linfocitos por 100 enterocitos.
- **Tipo 2** ("hiperplásico"): hiperplasia de criptas sin atrofia vellositaria y hay más de 30 linfocitos por 100 enterocitos.
- **Tipo 3** ("destrutivo"): atrofia vellositaria, hiperplasia de criptas y hay más de 30 linfocitos por 100 enterocitos. Se subdivide, según el grado de atrofia, en:
  - 3a : atrofia vellositaria leve (ratio vellosidad:cripta = 2:1)
  - 3b : atrofia vellositaria marcada o subtotal (ratio vellosidad:cripta = 1:1)
  - 3c : aplanamiento completo de la mucosa o atrofia total.
- **Tipo 4** ("atrófico"): atrofia vellositaria, sin hiperplasia de criptas ni incremento de linfocitos intraepiteliales.



**Figura 1.** Algoritmo de diagnóstico de la biopsia duodenal para estudio de EC.

Esta clasificación tiene el inconveniente de presentar una elevada variabilidad interobservador en su interpretación y aplicación, por lo que muy probablemente en el futuro se estandarizará el uso de clasificaciones más simples y prácticas, como las propuestas por Corazza-Villanaci o Ensari que sólo distinguen entre mucosa normal, mucosa con incremento de linfocitos intraepiteliales sin atrofia y mucosa con atrofia vellositaria (parcial o total).

Por último debemos comprobar si el paciente tiene biopsias previas y, en caso afirmativo, comparar los hallazgos actuales con los previos y reflejar la presencia o ausencia de cambios en el informe.

Hallazgos histológicos	Marsh - 1992	Oberhuber - 1999	Corazza-Villanaci - 2005	Ensari - 2010
- Arquitectura normal - LIE >30/100 enterocitos	Tipo 1	Tipo 1	Grado A	Tipo 1
- LIE >30/100 enterocitos - V:C = 3:1 - Hiperplasia de criptas	Tipo 2	Tipo 2		
- LIE >30/100 enterocitos - V:C = 2:1	Tipo 3	Tipo 3a	Grado B1	Tipo 2
- LIE >30/100 enterocitos - V:C = 1:1		Tipo 3b		
- LIE >30/100 enterocitos - Atrofia total		Tipo 3c	Grado B2	Tipo 3
- Atrofia total - LIE <25/100 enterocitos	Tipo 4	Tipo 4	-	-

**Tabla 1.** Equivalencia entre las diferentes clasificaciones histológicas.

En la tabla 2 se enumeran los diagnósticos diferenciales a considerar en función de los cambios histológicos.

Incremento de LIE	Atrofia vellositaria
Gastroduodenitis por H pylori Gastroduodenitis por AINEs Alergia alimentaria (excepto gluten) Infecciones: Giardia, Cryptosporidium... Sobrecrecimiento bacteriano Déficit de IgA Inmunodeficiencia común variable Enfermedad de Crohn Rechazo de trasplante	Enfermedad de cuerpos de inclusión o atrofia microvellositaria Enteropatía autoinmune Esprue tropical Esprue refractario Esprue colágeno Cambios por radio-quimioterapia Enfermedad injerto contra huésped Déficit nutricionales Linfoma T asociado a enteropatía

**Tabla 2.** Diagnósticos diferenciales según los hallazgos histológicos.

## V. MODELOS DE INFORME DE ANATOMÍA PATOLÓGICA.

- **Descripción macroscópica:** reflejar la localización y número de fragmentos remitidos.

*"Etiquetado como (bulbo duodenal/segunda porción duodenal) se reciben, en formol, (4) fragmentos irregulares de tejido de longitudes comprendidas entre (0,2 y 0,3 cm)"*

- **Descripción microscópica:** incluye tanto los hallazgos normales como los patológicos.

*"Biopsia de mucosa de intestino delgado con (arquitectura conservada/atrofia vellositaria parcial-total). El epitelio (sí/no) muestra incremento de linfocitos intraepiteliales (cuantificar, o al menos reflejar si son más o menos de 25/100 enterocitos). La lámina propia (sí/no) presenta una densidad celular adecuada, constituida fundamentalmente por linfocitos y células plasmáticas (eosinófilos, neutrófilos). (Sí/no) se observan microorganismos. (Otros hallazgos)"*

- **Diagnóstico:** debe ser descriptivo, porque el diagnóstico final de enfermedad celiaca requiere correlación clínico-patológica.

*“Biopsia de mucosa de intestino delgado (bulbo duodenal/segunda porción duodenal) con arquitectura conservada y sin incremento de linfocitos intraepiteliales, correspondiente con un tipo 0 de la clasificación de Marsh-Oberhuber”*

*“Biopsia de mucosa de intestino delgado (bulbo duodenal/segunda porción duodenal) con incremento de linfocitos intraepiteliales y atrofia vellositaria subtotal, correspondiente con un tipo 3b de la clasificación de Marsh-Oberhuber / grado B1 de Corazza-Villanacci”*

### **Bibliografía**

1. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Leigeman M, Mäki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, and Zimmer KP. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012 Jan;54(1):136-60.
2. Bao F, Green P, Bhagat G. An update on celiac disease histopathology and the road ahead. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136:735–745.
3. Villanacci V, Ceppa P, Tavani E, Vindigni C, Volta U. Coeliac disease: the histology report. *Digestive and Liver Disease* 2011;43:385-395.
4. Ensari A. Gluten-sensitive enteropathy (celiac disease): controversies in diagnosis and classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134:826–836.
5. Oberhuber G. Histopathology of celiac disease. *Biomed Pharmacother.* 2000 Aug;54(7):368-72.
6. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, Milione M, Luinetti O, Vindigni C, Chioda C, Albarello L, Bartolini D, Donato F. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2007;5:838–843.
7. Hammer ST, Greenson JK. The clinical significance of duodenal lymphocytosis with normal villus architecture. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137:1216–1219.
8. Mubarak A, Wolters VM, Houwen R, ten Kate F. Immunohistochemical CD3 staining detects additional patients with celiac disease. *World J Gastroenterol* 2015 June 28; 21(24): 7553-7557.



# Enfermedad de Hirschsprung

Patricia Gómez Iglesias

*Hospital Universitario de Móstoles, Madrid*

## I. CONSIDERACIONES GENERALES.

La enfermedad de Hirschsprung se define como la ausencia congénita de células ganglionares en los plexos mientérico y submucoso en un tramo de recto y colon. Como consecuencia se produce una alteración de la motilidad intestinal a dicho nivel. El límite inferior de la porción aganglionar siempre es el esfínter anal interno y la afectación habitualmente es continua. El límite superior es variable y no se trata de un límite neto, sino que existe una zona de transición entre el segmento aganglionar y el colon normal.

Según la extensión de la lesión se utilizan los términos “enfermedad de segmento corto” (80% de los casos) que afecta recto y una porción de colon sigmoide, “enfermedad de segmento largo” que se extiende proximalmente al ángulo esplénico, “enfermedad colónica” que afecta la totalidad del colon, “enfermedad intestinal” que implica todo el colon y parte de intestino delgado y “enfermedad de segmento ultracorto” que compromete sólo el recto distal intrapélvico.

Tiene una incidencia de un caso cada cinco mil recién nacidos vivos. Se produce por un error en la migración de las células de la cresta neural entre las semanas cuarta y duodécima de gestación. Se conocen varios genes implicados en su patogenia (uno de ellos el protooncogen RET), pero no hay un patrón de herencia definido. En general su presentación es esporádica, aunque se puede asociar a síndrome de Down, neurofibromatosis, neoplasia endocrina múltiple o algunas malformaciones congénitas.

El síntoma principal es el estreñimiento. Puede debutar con ausencia de emisión de meconio tras las primeras 48 horas de vida. También puede cursar con estreñimiento crónico en los primeros meses de vida, con síntomas progresivos de obstrucción intestinal (distensión abdominal y vómitos). Algunos casos son poco sintomáticos, lo que retrasa el diagnóstico. La complicación más grave es la enterocolitis, que puede ocasionar un cuadro de sepsis, perforación intestinal, incluso fallecimiento del paciente. Las pruebas de imagen son útiles para orientar el diagnóstico y estimar la extensión de la cirugía. En el enema con contraste se identifica un segmento de intestino estenosado, que corresponde a la porción aganglionar, y un tramo dilatado proximal. La manometría rectoanal pone de manifiesto una porción hipertónica y aperistáltica.

El diagnóstico requiere una biopsia de la mucosa del segmento estenosado en la que se demuestre la ausencia de células ganglionares. El tratamiento es quirúrgico y consiste en la resección del segmento agangliónico y restablecimiento del tránsito intestinal.

## II. BIOPSIA DE MUCOSA RECTAL.

- **La técnica de elección** es la biopsia por succión. Las muestras deben obtenerse al menos 2 cm por encima de la línea pectínea, pues los últimos 2 cm del recto de manera fisiológica tienen muy escasas células ganglionares. Se deben tomar dos o tres biopsias que midan al menos 3 mm de diámetro e

incluyan mucosa y submucosa. Sólo excepcionalmente se realizará una biopsia transmural que incluya la capa muscular, que requiere anestesia general y supone un elevado riesgo de complicaciones graves como sangrado o perforación intestinal.

- **El procesado** de las muestras es el habitual de las biopsias endoscópicas del tubo digestivo. Es importante realizar cortes seriados de cada fragmento.
- **Estudio microscópico:** en la enfermedad de Hirschsprung hay ausencia completa de células ganglionares en el segmento intestinal afectado e hipertrofia de fibras nerviosas (fibras de más de 40mm de diámetro), aunque este hallazgo puede estar ausente en neonatos y en la enfermedad de segmento largo.

La muestra se considera adecuada si la submucosa representa al menos un tercio del espesor de la biopsia. Si en los cortes iniciales no se ven células ganglionares, se realizan nuevos cortes para teñir con HE (hasta un total de 50-75, en nuestro centro hacemos 60) porque la densidad de células ganglionares en la mucosa rectal normal es baja (aproximadamente un grupo de 1-5 células cada milímetro) y podrían no verse sin la seriación adecuada. La presencia de una sola célula ganglionar descarta la enfermedad de Hirschsprung.

Otra dificultad para el diagnóstico es el aspecto inmaduro de las células ganglionares en los neonatos. Son de menor tamaño, con ausencia de gránulos en el citoplasma y ausencia de nucleolo. Para mejorar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico se utilizan **técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas:**

- Tinción de acetilcolinesterasa: requiere disponer de material en fresco y realizar cortes en congelación. El patrón de tinción es positivo en el citoplasma y las prolongaciones nerviosas de las células ganglionares colinérgicas. En pacientes con enfermedad de Hirschsprung hay un aumento del número y del calibre de las fibras nerviosas en la muscular de la mucosa y en la lámina propia. La interpretación de esta técnica es compleja, por lo que se recomienda comparar con un control de mucosa normal.
- Inmuntinción para calretinina: se utilizan cortes en parafina. El patrón de tinción en la mucosa normal es positivo intenso en el núcleo y granular en el citoplasma y prolongaciones nerviosas de las células ganglionares. También tienen positividad citoplasmática los mastocitos e histiocitos. En la enfermedad de Hirschsprung hay ausencia de positividad para calretinina en la submucosa, muscular de la mucosa y lámina propia (excepto los mastocitos o histiocitos). Se ha demostrado su superioridad a la tinción de acetilcolinesterasa para el diagnóstico por su mayor sensibilidad y porque su interpretación es más sencilla.
- Inmuntinción para NeuN: patrón de tinción positivo nuclear en las células ganglionares. Es útil en niños muy pequeños, cuando dudamos si lo que se ve en los cortes son células ganglionares inmaduras.

- **Modelos de informe de anatomía patológica:**

- **Descripción macroscópica:**

*"Etiquetado como (recto, a 3 cm del margen anal) se reciben, en formol, (varios) fragmentos irregulares de tejido de longitudes comprendidas entre (0,2 y 0,3 cm)"*

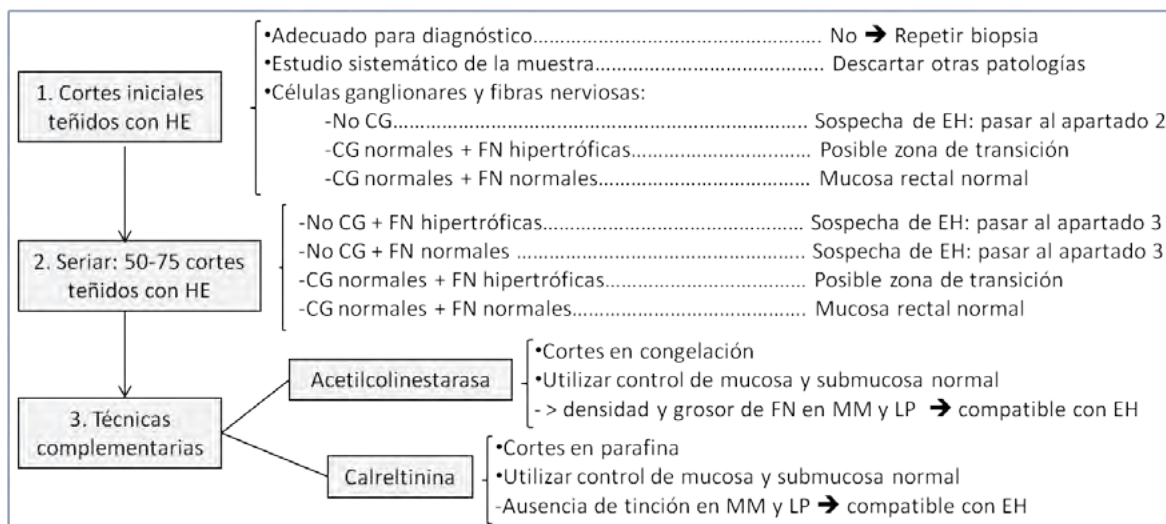
- **Descripción microscópica:**

*"Mucosa colorrectal en la que no se identifican células ganglionares y que muestra hipertrofia de fibras nerviosas. La inmuntinción para calretinina es negativa"*

- **Diagnóstico:**

*"Mucosa colorrectal con ausencia de células ganglionares e hipertrofia de fibras nerviosas, compatible con enfermedad de Hirschsprung"*

*"Mucosa colorrectal con presencia de células ganglionares, se descarta enfermedad de Hirschsprung"*



**Figura 1.** Algoritmo diagnóstico de biopsia rectal por succión. CG: células ganglionares. FN: fibras nerviosas. MM: muscular de la mucosa. LP: lámina propia. EH: enfermedad de Hirschsprung.

### III. BIOPSIA INTRAOPERATORIA.

- El estudio intraoperatorio del **margen proximal** está indicado para decidir a qué nivel se realiza la resección intestinal.
- El material se remite **en fresco** y debe incluir capa muscular.
- **Estudio microscópico:** pretende identificar la presencia o ausencia de células ganglionares y la presencia de fibras nerviosas normales o hipertróficas. En la tabla 1 se resumen las situaciones que podemos encontrar, qué información debemos dar al cirujano en cada una de ellas y la actitud que debería tomar el cirujano en consecuencia. Es importante, si vemos células ganglionares, buscar la presencia de fibras nerviosas hipertróficas para descartar que nos encontremos en la zona de transición. Si esta no es reseada en el acto quirúrgico hay riesgo de mala evolución postquirúrgica.

Hallazgos en cortes en congelación	Informe al cirujano	Decisión quirúrgica
No CG + FN hipertróficas	Fragmento aganglionar	Enviar nueva muestra (más proximal)
CG + FN hipertróficas	Fragmento ganglionar con hallazgos compatibles con zona de transición	Enviar nueva muestra (más proximal)
CG + FN normales	Fragmento ganglionar compatible con colon normal	Resección 3cm por encima de la muestra examinada

**Tabla 1.** Biopsia intraoperatoria.

- **Modelos de informe de anatomía patológica:**
  - **Descripción macroscópica:**

“Etiquetado como (borde proximal) se recibe en fresco, para estudio intraoperatorio, un fragmento irregular de tejido que mide (0,2 cm)”.
  - **Descripción microscópica:** no es preciso realizar descripción microscópica del estudio intraoperatorio de manera rutinaria. Podemos añadir una breve descripción si hay algún dato que queremos destacar en el informe.
  - **Diagnóstico:**

“Ausencia de células ganglionares en los cortes en congelación”.

“Presencia de células ganglionares y fibras nerviosas hipertróficas, compatible con zona de transición”

“Presencia de células ganglionares y fibras nerviosas normales, compatible con colon normal”

#### IV. PIEZA DE RESECCIÓN INTESTINAL.

- **Manejo macroscópico:** si se recibe la pieza en fresco y cerrada se debe medir, abrir longitudinalmente, observar si muestra alteraciones macroscópicas de interés y finalmente sumergir en formaldehído tamponado al 10%. Tras veinticuatro horas de fijación, se incluyen cortes correspondientes al margen quirúrgico proximal (es importante incluir la circunferencia completa) y cortes longitudinales de toda la extensión de la pieza, tal y como se representa en la figura 2. En caso de piezas grandes se pueden seleccionar cortes representativos de varios tramos diferentes.

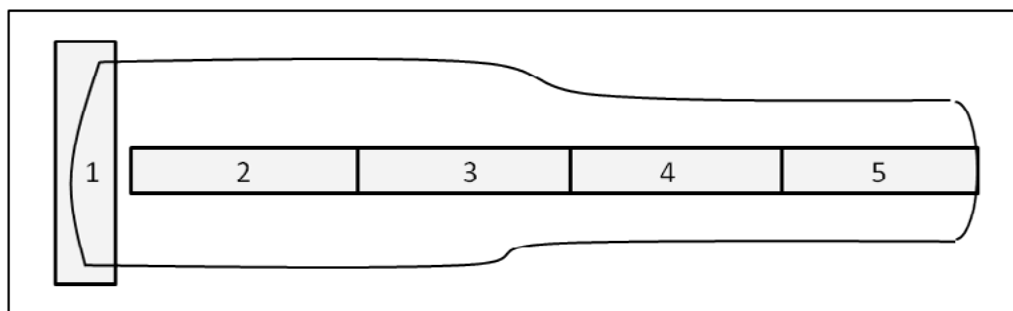


Figura 2. Esquema de tallado de la pieza de resección intestinal.

1. margen proximal; 2-5. cortes longitudinales

- **Estudio microscópico:** normalmente identificaremos tres tramos en la pieza
  - un segmento distal con ausencia de células ganglionares e hipertrofia de fibras nerviosas,
  - una zona de transición, que puede presentar aganglionosis no circunferencial, hipoganglionosis mientérica, fibras nerviosas hipertróficas, hiperganglionosis submucosa o células ganglionares ectópicas,
  - un segmento proximal de características histológicas normales.

Es importante, sobre todo, el estudio de la circunferencia completa del margen de resección proximal, pues la buena evolución del paciente depende de que la resección de las zonas aganglionar y de transición haya sido completa.

- **Modelos de informe de anatomía patológica:**

- **Descripción macroscópica:**

*“Se recibe (abierto/cerrado) una pieza de resección de intestino grueso que mide (X cm) de longitud. Se identifica un segmento “estrecho” de (X cm) de diámetro, en continuidad con un segmento “dilatado” de (X cm) de diámetro. Se incluye una sección longitudinal completa de la pared intestinal para estudio microscópico, así como el margen quirúrgico proximal.*

- **Descripción microscópica:**

*“Los cortes examinados corresponden a pared de intestino grueso. Muestran un segmento con ausencia de células ganglionares e hipertrofia de fibras nerviosas, una zona de transición con células ganglionares y fibras hipertróficas y un segmento con células ganglionares y fibras nerviosas normales. En los cortes correspondientes al margen proximal se identifican células ganglionares normales.*

- **Diagnóstico:**

*“Pieza de resección de intestino grueso que incluye un segmento aganglionar, concordante con enfermedad de Hirschsprung”*

#### Bibliografía

1. Knowles CH, De Giorgio R, Kapur RP, Bruder E, Farrugia G, Geboes K, Gershon MD, Hutson J, Lindberg G, Martin JE, Meier-Ruge WA, Milla PJ, Smith VV, Vandervinden JM, Veress B, Wedel T. Gastrointestinal neuromuscular pathology: guidelines for histological techniques and reporting on behalf of the Gastro 2009 International Working Group. Acta Neuropathol. 2009 Aug;118(2):271-301.



2. Schäppi MG1, Staiano A, Milla PJ, Smith VV, Dias JA, Heuschkel R, Husby S, Mearin ML, Papadopoulou A, Ruemmele FM, Vandenplas Y, Koletzko S. A practical guide for the diagnosis of primary enteric nervous system disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013 Nov;57(5):677-86.
3. Guinard-Samuel V, Bonnard A, De Lagausie P, Philippe-Chomette P, Alberti C, El Ghoneimi A, Peuchmaur M and Berrebi-Binczak D. Calretinin immunohistochemistry: a simple and efficient tool to diagnose Hirschsprung disease. *Modern Pathology* (2009) 22, 1379–1384.
4. Kapur RP1, Kennedy AJ. Transitional zone pull through: surgical pathology considerations. *Semin Pediatr Surg.* 2012 Nov;21(4):291-301.
5. Raj P. Kapur and Amy J. Kennedy. Histopathologic Delineation of the Transition Zone in Short-Segment Hirschsprung Disease. *Pediatric and Developmental Pathology* July/August 2013, Vol. 16, No. 4, pp. 252-266
6. Coe A, Avansino JR, Kapur RP. Distal rectal skip-segment Hirschsprung disease and the potential for false-negative diagnosis. *Pediatr Dev Pathol.* 2016 Mar-Apr;19(2):123-31.



# Valoración de las biopsias endoscópicas con sospecha de enfermedad inflamatoria intestinal idiopática en pacientes pediátricos

Yolanda Rodríguez Gil, Enrique Medina, Marina Alonso, Francisco Colina Ruiz Delgado  
*Sección de Patología Digestiva. Dpto. de Anatomía Patológica. Hospital 12 de Octubre*

## I. INTRODUCCIÓN

Este protocolo pretende ser una guía práctica en el manejo de las biopsias tomadas mediante endoscopia en el paciente pediátrico con signos y síntomas que hacen sospechar que su patología digestiva es crónica y podría tratarse de una enfermedad inflamatoria intestinal. No tratamos de recoger todos los diagnósticos diferenciales ni sustituir a la amplia información ya publicada sobre esta entidad (1) (2) Nos limitamos a proponer un método de aproximación sistematizado y de remarcar las diferencias y similitudes que pueda haber en las biopsias del paciente en edad pediátrica respecto a las biopsias del paciente adulto.

Los objetivos que se propone incluyen determinar **si hay enfermedad en la mucosa**, si la enfermedad es **crónica** y si es o no **activa**, si es **sugestiva de enfermedad inflamatoria intestinal idiopática (EIII)** y el grado de seguridad o si por el contrario deben considerarse **otras causas** de colitis y si finalmente si se considera EIII puede en algunos casos distinguirse entre **colitis ulcerosa (CU)** o **enfermedad de Crohn (EC)**. Adicionalmente pueden considerarse si existe o no **displasia**, determinar el **grado de actividad y la extensión** de la enfermedad y por supuesto descartar otra **patología coexistente** como pueda ser infección por citomegalovirus, etc. Está descrito que solo se puede diferenciar con precisión entre en el 64% de los casos de EC y el 74% de los casos de CU cuando se trata de biopsias iniciales (3), siendo esta diferenciación aún más difícil en edad pediátrica, especialmente en menores de 12 años. De los casos de EIII no inicialmente catalogados en la edad pediátrica el 60% serán posteriormente reclasificados hacia CU o EC a lo largo de la evolución (4). Los casos en que aún no puede asegurarse que se trate de una EC o una CU o bien porque se superpongan los hallazgos histológicos o bien porque no exista un diagnóstico claro se denominan **EIII sin otras especificaciones** (5), reservando el término "colitis indeterminada" para las piezas quirúrgicas, en las cuales después de un muestreo completo no existan rasgos que determinen diferencias entre CU o EC o bien se mezclen hallazgos característicos de ambas (6).

Esta guía de diagnóstico está basada en en parte en las guías de consenso previamente publicadas tanto por la European Crohn's and Colitis Organization (ECCO) (7) (8) (5) como por la North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) (1)), la British Society of Gastroenterology (9)) ,así como en la guía previamente publicada por nuestro grupo para la interpretación de biopsias

endoscópicas (6) . Los grados de evidencia de cada recomendación pueden consultarse en las guías publicadas por la ECCO aunque no siempre la metodología que emplea los grados de evidencia (EL) y grados de recomendación (GR) son aplicables a la histopatología (10; 9).

Entre las ventajas de utilizar una guía protocolizada de estudio y diagnóstico de esta enfermedad están: 1) optimización de toda la información disponible ,2) incrementar la reproductibilidad y la consistencia de los diagnósticos tanto interobservador como intraobservador ,3) facilitar la correlación clinicopatológica y la comunicación con los gastroenterólogos o pediatras encargados del tratamiento y manejo de estos pacientes.

### **Epidemiología y peculiaridades a conocer en la edad pediátrica**

La EIII es una enfermedad compleja caracterizada por la aparición de inflamación crónica en la mucosa. Se han descrito varios agentes en su etiopatogenia que incluyen alteraciones genéticas , ambientales (agentes infecciosos, higiene, tabaco ...etc) y de la propia inmunidad del paciente. Alrededor del 25% del total de casos de EII ocurren en menores de 18 años (11). Parece que la incidencia está aumentando en todo el mundo. Se observó un incremento significativo desde la incidencia anual de 0,97 hasta 2,8 por cada 100000 habitantes, durante el periodo 1950-2009 (12). La media de edad al diagnóstico es de 13 años. El incremento de incidencia parece ser más acentuado para enfermedad de Crohn (EC) que para colitis ulcerosa (CU) (13) siendo más frecuente en varones la EC (2,8:1) aunque la CU afecta a ambos sexos por igual (14). El aumento de la incidencia descrito en el estudio español SPIRIT se ha comprobado en posteriores registros, en el año 2011 una revisión sistemática de todos los registros de incidencia mostró que en el 77% había habido un incremento de EII en edad pediátrica (15) (12). En el estudio de UK la incidencia fue de 5,2 casos de EII en menores de 16 años cada año por cada 100000 habitantes, siendo un 60% EC y un 28% CU (16). Este incremento en la incidencia se ha tratado de explicar por los cambios en la flora intestinal que se han dado en los países desarrollados, debido a menor relación con animales, mayor higiene y a la refrigeración de los alimentos (17).

En niños con EII hay mayor incidencia de asociación genética, debe por tanto considerarse a necesidad de estudio de otros miembros de la familia que podrían estar afectados (18). En los últimos 30 años la evaluación de los niños con sospecha de EIII ha cambiado significativamente. En parte por la mayor pericia de los endoscopistas pediátricos, que han conseguido gran rentabilidad de las ileocolonoscopias, con resultados que permiten restringir el uso de las técnicas de imagen (enterorresonancia, TAC, enema de Bario) ,que por otra parte deben limitarse en los niños por las radiaciones ionizantes. Aunque todavía no está incluido en la práctica habitual es posible que en el futuro se añada un test genético como el empleado en otras enfermedades (fibrosis quística, poliposis familiar...) , se ha encontrado que el gen NOD2 está alterado en una gran parte de pacientes con EII y con tecnología de single nucleotide polymorphism (SNP) más de 100 genes parecen estar implicados en la etiopatogenia de la enfermedad (1)

La forma de presentación de la EII en los niños muestra similitudes con los adultos con una histología y lesiones básicamente similares pero con algunas peculiaridades que deben conocerse para evitar errores diagnósticos.

Suele ser más extensa la afectación, tanto en EC como en CU. El 60-80% de los casos de CU se presentan como colitis extensa , lo que supone el doble de veces que en los adultos (19). Suele cursar con más exacerbaciones que requieren mayor número de ingresos y peor evolución. Hasta un 30-40% precisan colectomía a los 10 años del diagnóstico, comparado con solo el 10% de los adultos (19). Es característico de los niños la afectación gastrointestinal de tramos proximales, que aunque es más frecuente en la EC no es exclusiva y en algunas ocasiones aparece también en CU (20). Las diferencias en la distribución de las lesiones, son marcadas hasta los 10 años en la C, siendo rara la proctitis, más adelante las lesiones se van pareciendo a las del adulto, en la EC siguen un gradiente inverso a la edad, cuanto más joven es el paciente, es más probable que tenga una EC con afectación colónica, la ileitis aislada es muy poco frecuente en niños y la presencia de granulomas es tres veces más frecuente que en adultos (20).

Además los niños presentan peculiaridades como la necesidad de evitar el tratamiento con esteroides de forma mantenida que puede tener efectos en el crecimiento. Hasta un 25-80% de los pacientes con EII en

la infancia tienen retraso del crecimiento añadido a los síntomas habituales de EII. Se cree que está causado por la pérdida de proteínas, disminución de la ingesta y la mala absorción debida a las lesiones intestinales inflamatorias.

## II. METODOLOGÍA DE APROXIMACIÓN A LA BIOPSIA ENDOSCÓPICA EN NIÑOS

### 1. Información previa y datos clínicos

El estudio histológico es un elemento crucial en el diagnóstico de EIII que además permite diferenciar en un alto porcentaje de casos entre EC y CU, no obstante el diagnóstico final es un diagnóstico clínico de correlación entre los datos morfológicos, endoscópicos, de laboratorio y de imagen (10) con lo que la biopsia con intención diagnóstica debe ir acompañada de una adecuada información clínica que permitirá descartar situaciones y enfermedades "imitadores de la EIII". Además esta biopsia debe hacerse previamente al inicio del tratamiento que cambia los hallazgos morfológicos (10)

### 2. Muestra representativa

Las muestras deben ser remitidas en envases separados y rotulados según la localización topográfica. El número óptimo no se ha establecido pero para la práctica recogemos las recomendaciones europeas y la experiencia de nuestro propio grupo, éstas recomiendan que deben proceder de al menos cinco localizaciones y que deben incluir íleon y recto, con al menos dos muestras de cada una de las topografías en cada envase (5) (6). Se ha demostrado que la precisión diagnóstica se incrementa con el número de muestras y que no puede sustituirse un adecuado número de muestras, por la realización de cortes seriados (21) (22) (23).

Si no se recibe un muestreo adecuado puede realizarse un diagnóstico descriptivo sin interpretación añadiendo que "para un adecuado diagnóstico histopatológico se requiere la toma de muestras en al menos 5 localizaciones topográficas" siendo en ese caso el material inapropiado para el diagnóstico de sospecha propuesto (6)

### 3. Valoración de si existe enfermedad histológica o la mucosa es normal.

#### 3.1. Mucosa normal

##### 3.1.1. Arquitectura de la mucosa normal

Las criptas del intestino grueso si están bien orientadas se disponen en un patrón paralelo similar a "tubos de ensayo sujetos en una gradilla" y se suelen encontrar en una densidad de aproximadamente 7-8 en cada milímetro de muscular de la mucosa (24). El acortamiento de las mismas, la atrofia y como alteración más reproducible las **bifurcaciones** deben hacernos sospechar enfermedad crónica. En el íleon la orientación puede ser menos paralela y en el recto las criptas son más cortas y a veces presentan dilataciones que son hallazgos inespecíficos. No puede valorarse la arquitectura en la periferia de un agregado linfóide ya que aquí las criptas periféricas pueden mostrar alteración de su orientación (9). Se considera un dato clave de enfermedad crónica la presencia de más de 1 cripta bifurcada (ramificación en su parte profunda o imagen de "espalda contra espalda en cortes transversales) en un único fragmento o de más del 10% de criptas con atrofia o bifurcaciones en el conjunto de muestras. Si existen dudas por irregular orientación se recomienda observar los cortes seriados y "perseguir" la bifurcación para ver si se confirma (6).

Debe valorarse la presencia o ausencia de células caliciformes que son más abundantes en íleon y deben estar presentes en la superficie epitelial del colon y en las criptas en un gradiente de más a menos hacia la parte más profunda, donde se encuentra el compartimento regenerativo, caracterizado por mayor cromatismo de los núcleos y mayor presencia de mitosis y menos células caliciformes. Aquí suele haber células neuroendocrinas y en colon derecho e íleon también células de Paneth, sin embargo en colon izquierdo la presencia de células de Paneth, significaría algún tipo de lesión de la mucosa con metaplasia.

### 3.1.2 Celularidad inflamatoria y normal en lámina propia

El intestino delgado y el grueso tienen en lámina propia de forma constitutiva células plasmáticas y linfocitos, son más abundantes en la zona subepitelial constituyendo la barrera inmunológica natural. La celularidad es más abundante en ciego y colon ascendente y menos abundante en recto, aunque aquí a veces existen agregados linfoides densos. Entre el infiltrado habitual de lámina propia existen eosinófilos que son menos de 60 en 10 campos de gran aumento aunque es difícil establecer el rango de número de eosinófilos normal ya que es muy variable (9) (25). Además existe un cierto grado de cariorrexis subepitelial bajo la membrana basal (6).

El íleon posee las Placas de Peyer, densos agregados de tejido linfoide localizados en submucosa y con discontinuidad de la muscular de la mucosa llegan a la mucosa, alrededor las criptas están desplazadas y en el centro de estos agregados no hay epitelio atrapado en condiciones fisiológicas.

Puede haber mucífagos o histiocitos con pigmento de degeneración de tipo lipofucsina, pseudomelánico, hierro etc en la lámina propia. Como cambios leves inespecíficos.

### 3.1.3 Celularidad inflamatoria y normal en el epitelio

En personas sanas puede observarse cierto grado de linfocitosis intraepitelial hasta un máximo de 5 linfocitos por cada 100 enterocitos, más de esta densidad debe hacer sospechar algún tipo de enfermedad ya sea infecciosa, EII, Colitis microscópica etc... En la superficie de los agregados linfoides anatómicos, suele existir mayor linfocitosis de forma constitutiva. No debe haber permeación del epitelio por eosinófilos, ni neutrófilos. Si esto ocurre debe ponerse en marcha un mecanismo de seguimiento y descartar posibles causas (26). A veces una pequeña proporción de neutrófilos intraepiteliales aparece como consecuencia de la preparación. Pero habitualmente deben ser la pista para pensar en un proceso patológico.

### 3.1.4 Cambios asociados a la preparación

Cambios que pueden ser debidos a la preparación y al efecto de la propia endoscopia y que por tanto son inespecíficos incluyen: la presencia de extravasación hemática o pequeños focos de hemorragias, edema focal, más frecuentemente distal, neutrófilos aislados en lámina propia, depleción de mucina, focal desprendimiento del epitelio de superficie, apoptosis focales (9).

## 3.2 Valorar si hay enfermedad en la mucosa y si el patrón sugiere EIII

Las anomalías posibles pueden agruparse en tres categorías principales (9), 1) arquitectura; 2) inflamación; 3) alteraciones del epitelio

### 3.2.1 Arquitectura

Deben valorarse la **distorsión de las criptas** en forma de bifurcaciones (que es el rasgo más reproducible) y que puede hacerse mediante la observación de ramificaciones y pérdida del paralelismo en cortes orientados a lo largo del eje mayor de las criptas o si los cortes son transversales observando la aposición de dos criptas "espalda contra espalda". También debe considerarse la **atrofia** que consiste en el acortamiento y separación entre las criptas, pero al ser menos reproducible no se aconseja incluirla en el término distorsión de las criptas, aunque es un dato a la hora de valorar la extensión de las lesiones.

Los casos de enfermedad crónica mantenida con lesión de la mucosa y posterior reparación pueden evolucionar a dar un **aspecto "pseudovelloso"** a la mucosa colorrectal, que es especialmente frecuente en la colitis ulcerosa (10).

Pueden desarrollarse **pseudopólipos**, algunos filiformes que se caracterizan en la endoscopia por el contorno redondeado del fragmento de biopsia que presenta en el centro un eje muscular procedente de la capa muscular de la mucosa, más o menos hiperplásica o un eje de submucosa edematosa o con fibrosis (6).

La **erosión** que consiste en la pérdida del epitelio mucoso o la **úlcera** que es más profunda y lesiona mucosa y submucosa, suele tener debajo tejido de granulación, ambas pueden identificarse por una masa de material fibrinonecrótico entre los fragmentos de biopsia y son signo de enfermedad activa.

La metaplasia antropilórica de la mucosa ileal es un rasgo de afectación crónica por una patología inflamatoria de la mucosa y se asocia a enfermedad de Crohn más frecuentemente.

En la edad pediátrica la EIII suele presentar menor grado de alteración de la arquitectura y resulta más difícil la confirmación de enfermedad crónica en las primeras biopsias. Si esto ocurre en el momento de realizar el primer diagnóstico, debe expresarse en el informe la sospecha diagnóstica con el grado de incertidumbre adecuado a cada caso, el diagnóstico deberá apoyarse en el conjunto de datos clínicos e histológicos. Si fuera preciso se deberían realizar biopsias pasados más de 6 meses para confirmar la cronicidad de las lesiones (10).

### 3.2.2 Inflamación

**Inflamación crónica:** La **plasmocitosis basal** es el hallazgo más reproducible con pérdida de la imagen de mayor densidad subepitelial, invirtiendo el gradiente hacia una mayor densidad en la parte profunda de la mucosa. Este hallazgo es más frecuente apreciable en los niños. Es más característico de la EIII en estadios iniciales. Lo presentan el 38% de los casos de EIII, y aún con más frecuencia en colitis ulcerosa inicial (9) (27).

El ciego y colon ascendente tienen de forma constitutiva mayor celularidad en la parte profunda de la mucosa.

El incremento difuso de linfocitos y plasmáticas es más difícil de valorar, deben diferenciarse los parches focales de linfocitos de los agregados linfoides normales, situados en posición basal, cercanos a la muscular de la mucosa, se aceptan hasta dos agregados basales en la mucosa normal.

**Inflamación activa:** Los **neutrófilos** son siempre patológicos y pueden presentarse con lesión del epitelio de superficie o de las criptas: **criptitis**, frecuentemente en la parte profunda de las mismas y con afectación "asimétrica", o como **microabcesos** cripticos o intersticiales si rompen la cripta, o en el grado más leve dispersos en lámina propia o en la luz de los capilares. Su intensidad permite valorar la actividad histológica (6).

La presencia de afectación focal por neutrófilos en ausencia de distorsión de la arquitectura ha sido llamada por algunos autores "colitis activa focal" pero especialmente en niños hasta un 28 % puede corresponder al inicio de una EIII más frecuentemente de tipo enfermedad de Crohn, otro 30 % corresponden a actividad residual inflamatoria postinfecciosa y cerca de otro 30% se consideran idiopáticas sin observarse enfermedad posterior (28).

**Los eosinófilos** también pueden dar imágenes de criptitis y estar aumentados en lámina propia pero este aumento debe ser muy llamativo para ser valorable. Los niños tienen mayor número de eosinófilos de forma constitutiva que los adultos, no hay consenso en el punto de corte para considerar patológicos los eosinófilos en el intestino delgado y grueso ya que se han encontrado hasta 35 eosinófilos de forma constitutiva en ciego y hasta 8 eosinófilos en recto (gradiente en descenso) (29). Los artículos más recientes consideran patológico a partir de 25 eosinófilos por campo de gran aumento (0,2 mm<sup>2</sup>) lo que se correspondería con grado leve de eosinofilia tisular (30) (31) (32) o más de 60 eosinófilos por campo de gran aumento (que se correspondería con grado intenso) (33). Esta eosinofilia tisular se ha visto asociada a peor respuesta a tratamiento en EIII. En los niños obliga además a realizar el diagnóstico diferencial con colitis alérgicas y presencia de parásitos, menos probablemente toxicidad farmacológica, otras causas menos frecuentes son las enfermedades del colágeno, Churgg Strauss, Poliarteritis nodosa, enfermedad celiaca, síndrome hipereosinofílico, H Pylori en los casos de eosinofilia tisular en biopsias gastroduodenales, etc (30).

**Inflamación granulomatosa:** se definen los granulomas como grupos de 5 histiocitos epitelioides y son muy característicos de la enfermedad de Crohn (EC) cuando no se asocian a una cripta lesionada (granuloma criptolítico), para descartar que se trate de un granuloma causado por la extravasación de mucina debe perseguirse en los cortes seriados y comprobar que no está en relación con una cripta, son más claros los que se sitúan en la profundidad de la mucosa sin relación a áreas de erosión. Hay que diferenciarlos de las células que rodean la capa basal de las criptas de hábito fibroblástico y que cortadas tangencialmente pueden dar la falsa imagen de un granuloma. Suelen estar mal delimitados. A veces se acompañan de parches inflamatorios con abundantes histiocitos en lámina propia junto con los linfocitos y plasmáticas. Pueden tener células gigantes pero no tienen necrosis. Obligan a descartar otras causas

de granulomatosis como infección tuberculosa, sarcoidosis etc. Los niños tienen más frecuentemente inflamación granulomatosa, ya que ésta aparece en el 53,8 % de los niños con EC y sólo en el 17,6% de los adultos con EII tipo Crohn (34).

### 3.2.3 Lesión epitelial

**Afta:** se visualiza en la endoscopia como una lesión puntiforme blanquecina. En el estudio histológico corresponde a un agregado linfoide que presenta en el epitelio de superficie o en el de las criptas adyacentes, un infiltrado de neutrófilos que dan imágenes de criptitis o lesión epitelial, incluso puede tener erosión superficial.

**La fisura** corresponde a una pérdida de continuidad de la mucosa profunda con presencia de neutrófilos en los bordes.

**La pérdida de mucina** se manifiesta en la superficie del epitelio y de las criptas cuando hay lesión epitelial y regeneración. La base de las criptas tiene menos mucina de forma constitutiva. Es difícil de valorar y está sujeta a subjetividad (8)

**LA metaplasia de células de Paneth** resulta valorable como cambio crónico cuando es distal al ángulo esplénico (9) ya que en colon derecho y ascendente son normales.

**Las apoptosis** pueden aparecer en el epitelio junto a algunas cariorrexis en EII, pero si son frecuentes y presenta otros datos histológicos atípicos, el paciente debe ser investigado para enfermedades autoinmunes. Esto es especialmente importante en los niños, ya que existen enfermedades genéticas que cursan con manifestaciones de disregulación inmune que pueden incluir inmunodeficiencias o alteraciones endocrinas y que responden a tratamientos diferentes que la EII clásica, además pueden beneficiarse de trasplante de médula ósea (ver comentarios en apartado 10).

### 3.2.4 Distribución de las lesiones

Debe valorarse si la distribución de las lesiones es continua o difusa, en el mismo lugar anatómico (varios fragmentos del mismo nivel o envase), en el mismo fragmento de tejido o entre diferentes localizaciones anatómicas (diferentes envases). Para ello la Sociedad Británica de Gastroenterología propone utilizar los términos siguientes (9):

**Difusa** en el mismo nivel (en todos los fragmentos de un nivel hay inflamación)

**Parcheada** (áreas de aumento o mayor inflamación en un fondo de incremento de celularidad linfoplasmocitaria crónica)

**Focal** no presenta inflamación de fondo, solamente focos aislados inflamatorios con fondo de celularidad habitual.

**Continua** entre diferentes localizaciones, **discontinua** en los diferentes segmentos o segmentaria.

La afectación histológica no siempre se correlaciona con la afectación endoscópica, los índices de actividad más habituales consideran un factor determinante el grado de extensión de la afectación en endoscopia.

En los niños es más frecuente que la CU se presente como **pancolitis con afectación continua**, ocurre en el 60-70% de los pacientes pediátricos, respecto a solo el 20-30% de los adultos (20). También es característico que la CU presente inflamación continua colónica y "recto respetado", lo que ocurre aproximadamente en el 30% de los niños (35). Cuando la CU se extiende hasta colon derecho e incluye afectación de íleon con "ileitis backwash", es difícil de diferenciar de una verdadera ileitis por EC que estuviera en fase no evolucionada (cuando no existen estenosis, ni fibrosis transmural, situación frecuente en la edad pediátrica). La proctitis es poco frecuente en pediatría. Tampoco suele encontrarse ileitis aislada, en la edad pediátrica la EC se presenta más veces como colitis que como ileitis aislada, aunque lo más probable es la presentación con enfermedad ileocolónica e incluso afectación de tracto digestivo alto (esofagitis, gastritis y duodenitis) que es más frecuente en EC pero también aparece en CU en edad pediátrica, en total entre el 16-51% de la EII en niños tiene afectación gastrointestinal (36).



La afectación pericecal (alrededor del orificio apendicular) con inflamación neutrofílica parcheada en esta zona es característica de ambas EC y CU y especialmente en la edad pediátrica no debe descartar el diagnóstico de CU. Cuando existe un "parche periapendicular" en la EC suele acompañar inflamación de la válvula y áreas adyacentes, en la CU de predominio izquierdo el "parche cecal" está más restringido a la zona periapendicular (10).

**4. ¿Hay actividad neutrófilica-eosinofílica?** La inflamación en la EIII puede ser crónica, crónica activa o solo activa (aguda o de corta evolución). Los rasgos que definen la presencia de actividad son **neutrófilos y eosinófilos, en forma de criptitis, microabcesos o permeando la superficie y la erosión y ulceración**. Debe graduarse la actividad histológicamente ya que se relaciona con el riesgo de malignización a largo plazo (37), aunque no existen índices homogéneos recomendamos el índice de Rutter para CU, será descrito más adelante en este protocolo (38). Este índice no ha sido validado para EC, ya que la distribución parcheada de las lesiones hace que la actividad histológica sea menos representativa que la descripción de actividad obtenida mediante endoscopia. La CU sin datos clínicos de actividad se ha denominado "quiescente" suele ser histológicamente inactiva respecto a la presencia de neutrófilos, aunque puede mantener un infiltrado inflamatorio de variable densidad linfoplasmocitario. La plasmocitosis basal suele disminuir. Persisten las alteraciones arquitecturales en relación al daño crónico pero durante la regeneración se recuperan las células epiteliales y caliciformes (10)

#### 5. Diagnóstico diferencial con otras colitis e ileitis

Una vez recogidos los datos de distorsión de la arquitectura e inflamación y sus peculiaridades, debe hacerse una valoración global de los rasgos morfológicos en el contexto clínico de edad y antecedentes del paciente para hacer el diagnóstico diferencial con otras entidades que pueden tener hallazgos morfológicos similares. La combinación de hallazgos es más útil que el uso de un único dato (9).

**Colitis aguda infecciosa:** en niños el diagnóstico diferencial más importante es con las colitis agudas infecciosas, habitualmente autolimitadas (con duración menor a un mes, que no precisan biopsias). Las infecciones debidas a *Clostridium difficile*, HIV, tuberculosis, amebas y esquistosomiasis tiene rasgos morfológicos distintivos. Los rasgos más frecuentemente descritos en la colitis aguda infecciosa en las primeras 1-10 semanas son la presencia de hiperplasia en lámina propia que afecta a los dos tercios más superficiales, raramente tienen plasmocitosis basal, suele haber neutrófilos en lámina propia y en el epitelio de las criptas y en la superficie, patrón de distribución difuso o al menos parcheado y continuo entre diferentes localizaciones. No suele haber distorsión de la arquitectura. Se parecen a un primer brote de CU, aún sin distorsión arquitectural. Los agentes causales más frecuentes dependen de la situación geográfica del paciente, en nuestro entorno son virus, *Campylobacter* y salmonelas paratíficas. La *Yersinia* puede presentarse además con granulomas no caseificantes en íleon, ciego y/o apéndice. Puede haber espiroquetosis intestinal que se diagnostica por la identificación de los microorganismos en la superficie de las células del epitelio colorrectal y que puede teñirse con inmunohistoquímica para *Treponema* por reacción cruzada. En pacientes inmunosuprimidos como los VIH se han descrito *Leishmania* y *Cryptosporidium* (6).

**Colitis pseudomembranosa:** causada por *Clostridium*, se relaciona con el uso previo de antibióticos y en niños pequeños con prematuridad, alteraciones inmunes, etc.

Los rasgos histológicos son característicos ya que tiene un patología vascular, produciendo microtrombos en la mucosa, necrosis y erosiones que presentan en la superficie pseudomembranas desarrolladas a partir de "penachos" que se abren desde la superficie de las criptas, contiene fibrina, mucina, detritus y células inflamatorias con restos de neutrófilos en fila india (6).

**Colitis tóxicas:** diferentes fármacos producen distintas lesiones. La quimioterapia y el micofenolato característicamente produce aplanamiento del epitelio que toma un aspecto eosinofílico y sincitial. Frecuentemente existen neutrófilos con criptitis. Los antiinflamatorios no esteroideos pueden producir apoptosis, así como la colchicina.

**Colitis en la enfermedad injerto contra huésped, en el rechazo del injerto intestinal y la enterocolitis de los pacientes VIH:** los datos clínicos suelen orientar la etiología con una histología compatible, Es característica la presencia de apoptosis, más frecuentes en zonas basales o madurativas. Pueden tener depleción celular en lámina propia por la inmunodepresión. Los casos más graves hacen úlceras y denudación grave del epitelio (39) (40).

**Colitis microscópicas:** tradicionalmente incluyen la colitis colágena y la colitis linfocitaria. Se caracterizan por clínica de diarrea acuosa mantenida en el tiempo. No se observan datos en la endoscopia. La colitis colágena bien definida por engrosamiento de la tabla colágena subepitelial de más de 10 micras (normal 3-5 micras) que suele ser más marcado en colon derecho. Este hallazgo, a veces es parcheado y puede acompañarse de moderada linfocitosis sintraepitelial y de celularidad inflamatoria en lámina propia y atrapada en el colágeno que incluye algunos eosinófilos. La colitis linfocitaria se define por linfocitos que permean tanto al epitelio de superficie como el de las criptas con más de 20 linfocitos en 100 enterocitos. Ocasionalmente tiene también neutrófilos y algo de irregularidad de las criptas.

**Colitis eosinofílicas:** para que la presencia de eosinófilos en lámina propia sea valorable deben ser abundantes (más de 25 eosinófilos en un campo de gran aumento o  $0,2\text{mm}^2$ ). Ocurre en EI en estadios iniciales tanto en Ec como en Cu pediátrica. Pero es también característica de las colitis alérgicas (suelen tener eosinófilos muy abundantes en ausencia de distorsión arquitectural relevante y desproporcionados en relación a número de neutrófilos). Deben descartarse parasitosis como oxiuros, anisakis etc...especialmente si la eosinofilia tisular es focal o segmentaria en ciego (41).

**Colitis o ileitis tuberculosa:** si se detectan granulomas debe considerarse ileitis o colitis granulomatosa. Debe valorarse la presencia del complejo diagnóstico de alteraciones arquitecturales e inflamatorias junto con la clínica para sugerir EI, y en todo caso excluir mediante estudios microbiológicos (incluida PCR) y tinciones especiales (Ziehl-Nielsen, Fite Faraco, Pas diastasa) la presencia de micobacterias. Se excluye Crohn si los granulomas son caseificantes. La tuberculosis intestinal tiene algunas diferencias morfológicas con la EC, las úlceras suelen ser transversales y no lineales, afecta a segmentos de colon pequeños y tramos separados. En la afectación gastrointestinal por tuberculosis no suele haber úlceras aftosas. No hay lesiones perianales. A veces se presenta con válvula ileocecal abierta.. Puede haber engrosamiento del íleon también en tuberculosis intestinal, pero suele ser asimétrico. Suele haber ganglios necróticos en el mesenterio o en otras localizaciones. Es clave distinguir estas dos entidades dado que los tratamientos son opuestos.

**Vasculitis incluyendo el síndrome de Beçhet:** pocas veces puede hacerse el diagnóstico de vasculitis en las muestras tomadas por endoscopia de unos pacientes con vasculitis con afectación intestinal. Sin embargo a veces aparecen imágenes de microtrombos y vasculitis en capilares de los vasos con erosiones o úlceras por colitis aguda de cualquier causa. Debe hacerse una búsqueda exhaustiva y no pueden descartarse si existe sospecha clínica dada la poca sensibilidad de las biopsias.

**Enterocolitis en inmunodeficiencias:** algunas cursan con una llamativa ausencia de células plasmáticas observable en íleon, frecuentemente asocia hiperplasia folicular linfoide, a veces también granulomatosis (42).

**Colitis por derivación:** se sospecha con el antecedente quirúrgico del paciente y además tiene una histología particular. La colitis por derivación suele mostrar un incremento difuso o parcheado de celularidad de predominio linfocitario que forma grandes agregados a veces incluso con centros germinales, algunos casos asocian neutrófilos.

**Colitis isquémica:** es poco frecuente en niños salvo en trastornos mecánicos como vólvulos, malformaciones, hernias, cirugía previa, síndrome adherencia etc. En su forma aguda muestra depleción celular con extensas aéreas de edema y necrohemorragia o congestión capilar de la mucosa. Las criptas pierden células caliciformes e incluso están denudadas en su parte superior, con la parte más profunda con aspecto regenerativo. Suele tener un componente de neutrófilos desproporcionadamente escaso para el grado de lesión epitelial. Sin embargo la isquemia crónica debe mencionarse porque puede presentarse como cambios arquitecturales parcheados sin inflamación como una EI inactiva. Especialmente es un diagnóstico frecuente en ancianos como causa de diarrea, raro en niños.

## 6. Clasificar entre EC o CU o no puede determinarse

La subclasificación debe hacerse en base a datos clínicos e histopatológicos y no solamente histológicos (9).

La definición de las dos entidades según la ECCO/ESPGHAN (43) (44) implica que la CU se caracteriza por inflamación difusa de la mucosa limitada al colon. Se clasifica según el grado de extensión de la máxima inflamación ya que esto se relaciona con el riesgo de cáncer. La EC es parcheada, transmural y puede afectar a cualquier parte del tracto intestinal. Alrededor de un 5% de las EIII son tras estudio histológico, endoscópico y clínico imposibles de diferenciar entre EC y CU dada la existencia de rasgos superponibles entre ambas. Debe limitarse el término **EII indeterminada** para los casos en que en la propia pieza quirúrgica tras múltiples tramos estudiados cumple criterios que se superponen entre las dos entidades. El resto aún sin poder clasificar se debe llamar "sin otras especificaciones o todavía no clasificada" (6).

La diferenciación entre las dos entidades tiene importancia clínica para el tratamiento médico y quirúrgico, ya que el reservorio ileal se ofrece sólo a los pacientes con CU porque suele tener mala evolución en los de EC (45). Debe hacerse un esfuerzo en distinguir la opción más probable, especialmente en niños que son los que tienen más riesgo de precisar cirugía a lo largo de la evolución de su enfermedad. Sin embargo, no es necesario catalogar la enfermedad en las primeras biopsias, más bien debe esperarse al establecimiento de cambios en la arquitectura o a la resolución del cuadro de megacolon tóxico para poder catalogar la enfermedad (no antes de seis semanas), para ello pueden necesitarse biopsias sucesivas a lo largo de meses. Según los rasgos descritos ampliamente en la literatura (10) (9) (7) los cuales unos son más frecuentes y sensibles y otros rasgos como los granulomas son más específicos, describimos a continuación los más específicos de cada entidad:

### a) RASGOS MÁS ESPECÍFICOS QUE FAVORECEN COLITIS ULCEROSA

- Presencia de **inflamación difusa** en todos los fragmentos y continua entre niveles hacia distal, aunque en los niños es característico que respete el recto (en 30% de los menores de 10 años) (10) Los enemas y el tratamiento también producen cicatrización del recto y confundir respecto a la afectación distal. Más específico aún si añade microabcesos y criptitis. Los microabcesos son más comunes (41%) en la CU que en la EC (19%) (46)
- Afectación extensa (pancolitis) presente en el 60-70% de los niños con CU, frente a sólo el 20-30% de los adultos con CU (47)
- Pueden formarse pseudopólipos inflamatorios en puntos de mucosa respetada entre áreas ulceradas, más frecuentes en colon izquierdo (10)
- Afectación **de colon izquierdo con inflamación exclusiva periapendicular** "parche cecal periapendicular" que aparece en el 75% de los pacientes con enfermedad distal (48)
- Si hay gran distorsión de la arquitectura la mucosa toma contorno en superficie de aspecto **pseudovellositario**
- Si existe cicatrización no da lugar a estenosis, más bien se limita a fibrosis de mucosa y submucosa con **atrofia de criptas y en la endoscopia, haustras aplanadas**. El epitelio muestra pérdida de mucina y caliciformes en colon distal que en la etapa de remisión pueden regenerarse y presenta células de Paneth más allá del ángulo esplénico, también en fase quiescente (10).
- La **plasmocitosis basal** es útil en diferenciar CU de afectación por colitis infecciosa pero es poco útil para diferenciarla de EC, en niños es más frecuente que en adultos y en la etapa inicial de la enfermedad puede ser el único rasgo detectable (49) que haga sospechar EII.
- En la **edad pediátrica** debe tenerse en cuenta respecto a los adultos: la CU puede ser más parcheada y más veces respeta el recto. Suele ser extensa desde su presentación siendo frecuente la "pancolitis" aunque con menos intensidad de neutrófilos. Más frecuentemente tiene afectación gástrica (gastritis focal "focal enhanced"). Tiene menos alteraciones arquitecturales en el momento del diagnóstico (puede ser debido a que la evolución suele ser más corta). Es más extensa en su presentación y por tanto tiene más riesgo de presentar "ileitis backwash" aunque algunos autores han encontrado frecuencia

similar de "ileitis backwash" en niños y adultos, puede deberse a que la actividad inflamatoria en los niños con CU es menor (50).

*b) RASGOS MÁS ESPECÍFICOS QUE FAVORECEN ENFERMEDAD DE CROHN*

- Granuloma no criptolítico, esto significa que no se relaciona con una cripta lesionada en los cortes seriados, ni con mucina o cuerpo extraño o una erosión, es más específico si está profundo en mucosa no erosionada o en submucosa. La presencia de granulomas no asociados a criptas lesionadas, es el rasgo que ha demostrado mayor valor predictivo de EC (51). Es además más frecuentemente encontrado en EC en edad pediátrica (53.8% de los niños con EC frente a solo el 17,6% de los adultos) (52).
- **Ileitis** con actividad neutrofílica, cuya especificidad aumenta si además añade alteraciones arquitecturales incluyendo **metaplasia antropilórica**. Los niños tienen menor frecuencia de afectación ileal en la EC respecto a los adultos (el **10-20% de las EC son solo colónicas** en niños) (53). No debe descartarse que puede tratarse de EC aunque la afectación ileal no se manifieste (54). Además debe diferenciarse de la "backwash ileitis" que ocurre en CU con afectación retrógrada. Las primeras manifestaciones de "ileitis" suelen ser la úlceras aftosas en el borde antimesentérico del intestino, que confluyen dando lugar a un aspecto de "úlceras serpiginosas". La presencia de úlceras o fisuras profunda le da aspecto en "empedrado" a la mucosa.
- **Afectación gastrointestinal alta:** es característico de la enfermedad de Crohn que se manifieste con afectación en forma de actividad inflamatoria focal en esófago, estómago y/o duodeno (55). Especialmente en los niños es obligado incluir en el estudio de la EII una esofagogastroduodenoscopia según las recomendaciones de ECCO y ESPGHAN (7). La gastritis focal o "focally enhanced", en ausencia de *Helicobacter pylori* es frecuente en edad pediátrica, aproximadamente afecta al 8-21% de las CU y al 43-76% de las EC con lo que no es del todo específica para diferenciar entre CU y EC (56) (57) pero debe incluirse en la valoración de la distribución de las lesiones.
- En niños debe tenerse en cuenta: la EC puede ser más extensa en colon y afecta a veces al colon de forma exclusiva. Los granulomas son más frecuentes. La afectación esófago-gástrica es frecuente. Suele ser parcheada (10). La enfermedad perianal parece no estar relacionada con la edad cuando se utilizan criterios uniformes para definirla (58), tampoco parece haber diferencias respecto a la presencia de fístulas y estenosis. En la CU las diferencias con los adultos son marcadas hasta los 10 años, en EC las diferencias siguen un gradiente inverso a la edad, siendo la afectación exclusiva colónica más probable cuanto más joven es el paciente (36). Aproximadamente el 75% de los pacientes con EC colorrectal, a lo largo de su evolución desarrollan manifestaciones perianales (fisuras, úlceras, abscesos, estenosis, etc.) (59)

## 7. Graduar la actividad

La inflamación puede clasificarse en CRÓNICA; CRÓNICA Y ACTIVA o sólo ACTIVA (60). La presencia de **actividad histológica** se define mejor por la presencia de neutrófilos (61), ya sean como criptitis, microabscesos, en lámina propia, en el epitelio de superficie, o en relación a erosión o úlcera.

Según las recomendaciones del European Consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease (European Crohn's and colitis organisation y european Society of pathology) todos los informes de anatomía patológica de una colitis crónica deben incluir un comentario sobre el grado de actividad, aunque en la EC la ausencia de actividad histológica no descarta la presencia de actividad en el intestino en otras áreas o biopsiadas (5).

Por el momento no hay un acuerdo para graduar la actividad histológica de la EII. La endoscopia tiene un valor fundamental al describir la extensión de las lesiones y ser capaz de seleccionar las zonas de mayor lesión para biopsiar (9). Tanto la localización de las lesiones como la actividad son determinantes por lo cual es fundamental utilizar una clasificación uniforme que aminore la ambigüedad en diferenciar el fenotipo y la gravedad de la afectación. La recomendación es utilizar la clasificación de Paris para niños, que a su vez está basada en la clasificación de Montreal (62)

La importancia de graduar la actividad viene dada porque se asocia a mayor riesgo de complicaciones y de desarrollar carcinoma a largo plazo y porque es el mejor método de valorar la respuesta al tratamiento. La respuesta histológica (actividad histológica) es necesaria para valorar respuesta al tratamiento en muchos ensayos clínicos y en la práctica para ajustar el tratamiento en algunos casos.

En la CU la actividad histológica se correlaciona bien con actividad endoscópica y puede ser incluso más sensible para casos leves (6). En la EC la actividad endoscópica con presencia de fístulas o estenosis parece ser más valorable que la actividad histológica (5), probablemente debido a las características discontinuas de las lesiones. Los gastroenterólogos pediátricos utilizan los índices de actividad PGA (physicians Global Assesment) y PCDAI (Pediatric Crohn´s Disease Activity Index ) junto con la valoración del estado de desarrollo puberal (63). Para la **CU y la EII** aún no clasificada nuestro grupo utiliza el índice histológico desarrollado por Rutter et al (38) que se ha correlacionado con la probabilidad de desarrollar carcinoma y es el utilizado en la guía británica de carcinoma y que se relaciona en sus grados, con los propuestos por La Bristish Society of gastroenterology, aunque añade el grado 1: inflamación crónica o solo neutrófilos en lámina propia (frente a los de nada, leve, moderada, intensa) quedaría resumida así (6):

**TABLA 1. GRADOS DE ACTIVIDAD EN COLITIS ULCEROSA (38)**

<b>GRADO 0:</b>	DE CARACTERÍSTICAS HABITUALES
<b>GRADO 1:</b>	COLITIS CRONICA sin actividad inflamatoria o con inflamación crónica o con sólo neutrófilos en la lámina propia.
<b>GRADO 2:</b>	ACTIVIDAD INFLAMATORIA <b>LEVE</b> cuando existen criptitis sin microabscesos.
<b>GRADO 3:</b>	ACTIVIDAD INFLAMATORIA <b>MODERADA</b> cuando se añaden pocos microabscesos.
<b>GRADO 4:</b>	ACTIVIDAD INFLAMATORIA <b>INTENSA</b> cuando además de criptitis existen numerosos microabscesos y/o erosiones o ulceraciones).

La Bristish Society of gastroenterology ha publicado recientemente una guía para informar las biopsias de EII siguiendo el esquema PAID: **patrón** (sitios afectados y si es continua , segmentaria o de solo un sitio y si es difusa , parcheada o focal en el mismo sitio) ; **Actividad** (nada, leve, moderada, intensa); Sitio de máxima actividad en colorrecto(ciego, colon ascendente, transversal, descendente, sigma o recto), **Interpretación** (compatible, sugestiva, probable, definitiva) y categoría CU o EC si es posible, **Displasia** y localización (9).

Siguiendo este esquema ejemplo de valoración histológica:

- A. *Biopsia de mucosa de intestino delgado remitida como "íleon" con características habituales*
- B. *C.D. E. Biopsias de mucosa colorrectal procedentes de "ciego, colon ascendente, sigma y recto" con colitis crónica (distorsión de la arquitectura difusa afectando a todos los niveles) con actividad inflamatoria leve (múltiples criptitis) afectando de forma parcheada a todos los niveles. Las lesiones son más sugestivas de enfermedad inflamatoria intestinal idiopática de tipo CU dada la distribución de las lesiones y la ausencia de granulomas y afectación profunda (ausencia estenosis, fístulas etc.). No se ha objetivado displasia en ninguna de las muestras.*

### 8. Valorar la presencia de displasia

Displasia se define como la presencia de epitelio inequívocamente neoplásico en ausencia de invasión (5). Displasia asociada a EII se define como displasia en áreas de inflamación crónica.

Los criterios histológicos son arquitecturales y citológicos. Los rasgos arquitecturales incluyen el amontonamiento de glándulas por sobrecrecimiento, elongación y distorsión de las criptas, aumento de tamaño, Las células neoplásicas son altas, con núcleos amontonados con estratificación y pueden hacer diferenciación hacia mucina o estar disminuida. La mucina se encuentra en células columnares en lugar de en caliciformes. Pueden encontrarse mitosis en la parte superior de las criptas, incluso en la superficie del epitelio. Se parece a la displasia de un adenoma tubular (64).

Si es plana generalmente se asocia a EII y tiene más riesgo de desarrollar carcinoma colorrectal en el futuro, se define como displasia plana la que se presenta en mucosa con espesor menor de dos veces el de la mucosa normal, aunque conviene valorar la mucosa de alrededor. Si la displasia es sobreelevada puede ser "adenoma like" es decir, bien delimitada similar a un adenoma, o en relación a estenosis, parches o placas irregulares etc...debe valorarse la mucosa de alrededor y la alejada de la lesión para tratar de relacionarla con las lesiones producidas por la EII. Tabla 3.

La presencia de displasia es el marcador más objetivo y detectable del riesgo de neoplasias. En los niños con larga evolución de la enfermedad el riesgo es proporcional al tiempo de evolución. La displasia asociada a la colitis se desarrolla en las áreas de inflamación crónica y se subdivide en 4 tipos: negativo para displasia (epitelio reactivo o regenerativo), indefinido para displasia (no puede asegurarse si se trata de displasia o regeneración), positivo para displasia de bajo grado, positivo para displasia de alto grado. Especialmente para la displasia de bajo grado y el cambio indefinido para displasia se requiere la concordancia entre dos patólogos o la consulta a un patólogo especializado en patología gastrointestinal dada la poca concordancia interobservador (65). En el año 2000 la clasificación de Viena cambió la última categoría, llamándola "neoplasia no invasiva de alto grado" en lugar de utilizar el término displasia de alto grado (64)

Puede ocurrir en cualquier parte del colon y más frecuentemente es multifocal.

Deben tomarse biopsias de cuatro cuadrantes de cada 10 cm del colon para "mapear" la posible presencia de displasia, además de tomar muestras de toda lesión sobreelevada (5) . Debe ponerse especial ahínco en tomar muestras de rectosigma porque el riesgo de malignización es mayor que en zonas proximales.

Puede ayudar la expresión de p53 que se sobreexpresa en el 33-67% de los pacientes con displasia y en 83-95% de los pacientes que asociaron carcinoma colorrectal en EII (66) aunque existe una pequeña proporción de casos en que la mucosa regenerativa puede expresar p53. Se puede añadir al panel la alfa-metil-CoA-racemasa que se considera bastante específica de displasia y carcinoma frente a la mucosa normal que no la expresa (67)

## TABLA 2. DIFERENCIAR LA DISPLASIA ASOCIADA A EII (5)

### Displasia asociada a colitis

- Edad menor de 50 años
- Enfermedad muy extensa
- Enfermedad activa
- Duración de la enfermedad de más de 10 años
- Glándulas neoplásicas irregulares
- Inflamación acompañante en lámina propia
- Mezcla glándulas benignas y malignas en la superficie

### Displasia asociada a adenoma

- Edad mayor de 60 años
- Enfermedad subtotal no muy extensa
- No activa
- Duración menor de 10 años
- Bien delimitada , no plana,sobreelevada
- Glándulas neoplásicas regulares
- No mezcla en superficie glándulas benignas y displásicas

El manejo de la displasia asociada a EII todavía es controvertido se cree que el riesgo en **displasia plana de alto grado** de desarrollar carcinoma es de aproximadamente el 22%. La displasia de bajo grado puede evolucionar a displasia de alto grado y se cree que el riesgo de cáncer aumenta en 9 veces respecto a los



que no tienen displasia (5). La **displasia elevada no similar a adenoma** y asociada a EII es de alto riesgo de evolución a carcinoma por lo que se recomienda proctocolectomía (68) (38).

#### 9. Valorar si hay infección sobreañadida por CMV.

En los pacientes con colitis intensa que no responde al tratamiento inmunosupresor debe hacerse estudio inmunohistoquímico para tratar de detectar reactivación de CMV aunque no se observen pseudoinclusiones en histología (5). También en casos de úlceras y presencia de tejido de granulación. El resultado puede darse de forma semicuantitativa diciendo el número de células infectadas o el número de fragmentos con células positivas (5). En la CU el riesgo de reactivación de CMV es mayor que en EC 10-56% en CU frente a 0-29% en EC ) (69). Por el momento no está definido en cuantos fragmentos debería realizarse el estudio de inmunohistoquímica (IHQ), nuestro grupo tras el estudio de 75 pacientes sucesivos con actividad 3-4, detectó CMV en 8 pacientes con IHQ de los cuales la mitad también tenían inclusiones en HE (6). Se propone realizar IHQ en dos fragmentos escogiendo los de mayor actividad para las EII que no responden a tratamiento y las EII en grado 3-4 de actividad según la clasificación de Rutter et al (70).

#### 10. Comentarios y datos adicionales

Cuando nos encontramos en un paciente con sospecha de EII y solo cambios leves debe tratarse de recolectar toda la información disponible, además de los datos clínicos, hacer cortes seriados a la búsqueda de actividad inflamatoria, revisar si existen biopsias previas y emitir un comentario de la valoración conjunta de todos estos datos.

Existen situaciones especiales y patologías añadidas a las descritas de EII que no son objeto de este protocolo y para conocerlas con detalle pueden revisarse en la literatura como son la valoración del reservorio y su actividad inflamatoria (71), la presencia de divertículos que es rara en edad pediátrica pero coexiste en adultos con EII, y la EII de presentación muy precoz que describimos a continuación por tratarse de una presentación peculiar en edad pediátrica (72; 73).

##### 10.1 Enfermedad inflamatoria de presentación muy precoz (Very early Inflammatory bowel disease)

Cuando aparecen síntomas y signos similares a los de la EII en un niño menor de 6 años (74), aunque frecuentemente ocurre en el primer año de vida (75). Parece que a diferencia de los subtipos establecidos en la clasificación de Paris (para menores de 10 años y mayores de 10 años) que no presentan grandes diferencias fisiopatológicas (76) el subgrupo de menores de 6 años requiere consideraciones especiales. Constituye entre el 4% y el 10 % de los pacientes con sospecha de EII en edad pediátrica (77). En estos pacientes debe hacerse un estudio exhaustivo de la posible presencia de alteraciones endocrinas, incluyendo diabetes tipo 1, otras enfermedades autoinmunes como tiroiditis, con estudio de autoanticuerpos y caracterización de niveles de IGG, IGA e IGM, así como de la presencia de hipereosinofilia. En el estudio histopatológico, estos casos muestran características histológicas superponibles a EII a veces con peculiaridades como la presencia de apoptosis y un patrón histológico que recuerda a "enfermedad injerto contra huésped" en casos leves pueden ser parcheadas y similares a EIII tipo EC. Cuando esta presentación temprana aparece o en niños y jóvenes en que no hay una buena respuesta a tratamiento o existen otras enfermedades autoinmunes o endocrinas asociadas puede realizarse un panel genético que descarte el grupo más frecuente de enfermedades que incluyen disregulación inmune y afectación intestinal, por el momento hay más de 150 genes descritos, pero se agrupan en los siguientes mecanismos patogénicos (78):

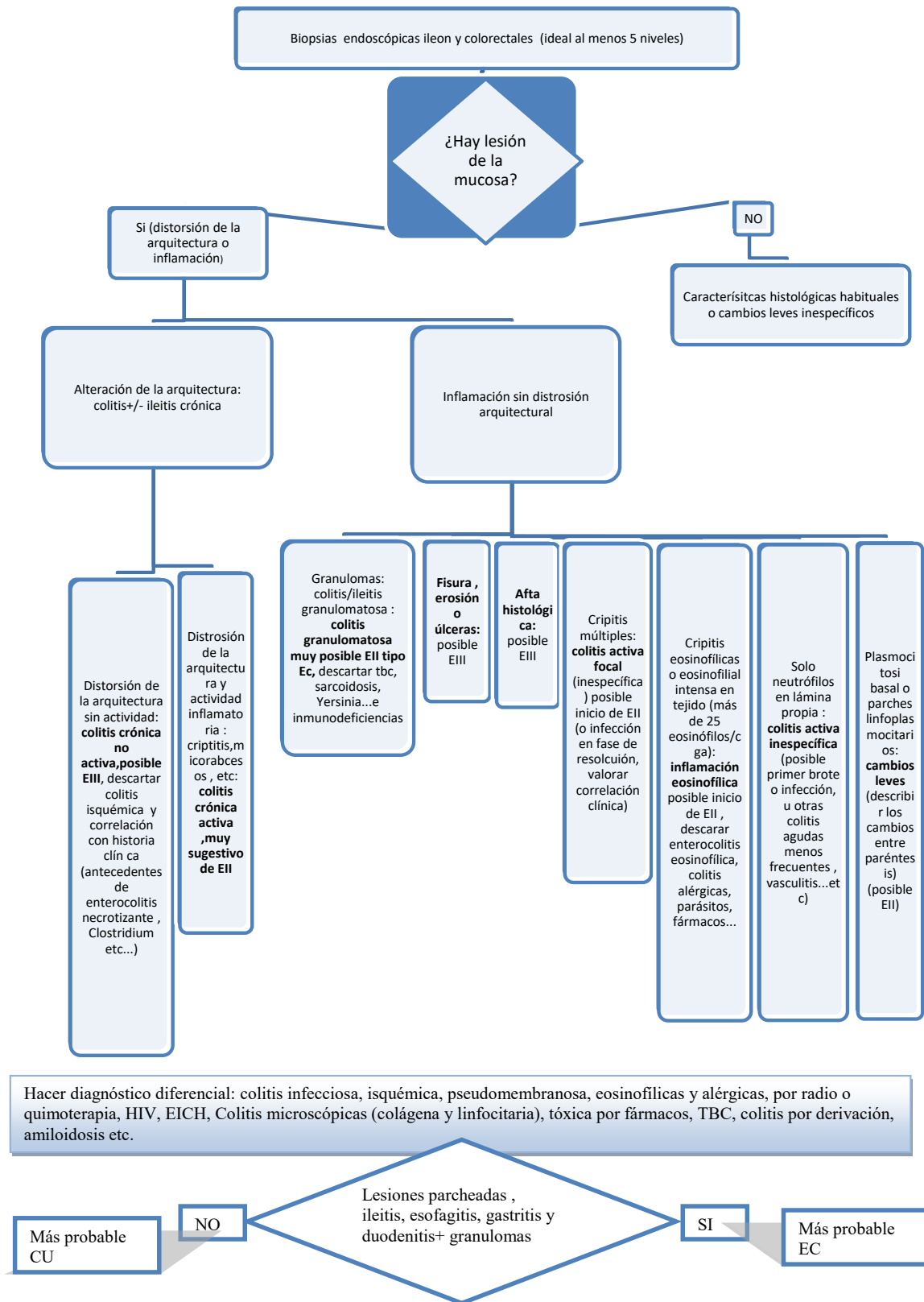
1. Defectos en la tolerancia inmune mediada por células T (Síndrome de poliendocrinopatía, autoinmunidad y enteritis, ligado al cromosoma X, "IPEX")
2. Defectos en la señalización de ILE-10
3. Defectos por inflamación exacerbada (Defectos en citotoxicidad de células T)
4. Alteraciones en la función de los neutrófilos
5. Alteraciones en la barrera epitelial
6. Alteraciones combinadas de linfocitos T y B

Algunas casas comerciales han desarrollado paneles rápidos para descartar entre 25 y 50 de estas alteraciones genéticas (77) y si estos test resultan negativos aún podría hacerse secuenciación aunque es un procedimiento más caro y laborioso.

Es importante identificar estos casos ya que no responden al tratamiento inmunosupresor habitual, incluso puede agravar esta enfermedad, algunas de las cuales tienen tratamientos farmacológicos específicos y otras responden muy bien al trasplante de médula ósea o de progenitores hematopoyéticos que puede incluso curar la inmunodeficiencia (77)



ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO DE EIII (Modificado de Colina et al (6))



## Bibliografía

1. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition.; Colitis Foundation of America., Bousvaros A, Antonioli DA, Colletti RB, Dubinsky MC, Glickman JN, Gold BD, Griffiths AM, Jevon GP, Higuchi LM, Hyams JS et al. Differentiating ulcerative colitis from Crohn disease in children and young adults: report of a Working group of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the Crohn's and Colitis Foundation of America. *J Pediatric Gastroeterol Nut* May;44(5):653-74,2007
2. Jenkins D, Balsitis M, Gallivan S,ET al. Guidelines for the initial biopsy diagnosis of suspected chronic idiopathic inflammatory bowel disease. The British Society of Gastroenterology Initiative. *J Clin Pathol*. 50(2):93-105,1997.
3. Bentley E, Jenkins D, Campbell F, Warren B.How could pathologist improve the initial diagnosis of colitis? Evidence from na international workshop. *J Clin Pathol* 55:955-960, 2002.
4. Heyman MB, Kirschner BS, Gold BD et al. Children with early onset inflammatory disease (IBD): Analysis of a pediatrium IBD consortium registry. *J Pediatr* 146:35-40, 2005.
5. Magro F, Langner C, Driessen A, Ensari A, et al. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis* 7:827-851, 2013.
6. Colina F, Ibarrola C, Salamanca J, López Alonso G, Rdriguez Gil Y. Guia para la interpretación de las biopsias endoscópicas con sospecha de enfermedad inflamatoria intestinal idiopática. *REv Esp Pathol* 47; 161-177, 2014.
7. Stange EF, Travis SPL, Vermeire S, et al. for the European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO). European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease:definitions and diagnosis. *Gut* 55(Supl 1): i1-i15, 2006.
8. Van Assche G, Dignass A, Panes J et al. The second European based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis* 4:7-27, 2010.
9. Feakins RM. Inflammatory bowel disease biopsies: updated british Society of gastroenterology reporting guidelines. *J Clin Pathol* 66: 1005-1026, 2013.
10. Langner C, Magro f et al ; European Society of Pathology.; European Crohn's and Colitis Foundation.. The histopathological approach to inflammatory bowel disease: a practice guide. *Virchows Arch*. 464(5):511-27, 2014.
11. Abraham BP, Mehta S, El-Serag HB. Natural history of pediatric-onset inflammatory bowel disease: a systematic review. *J Clin Gastroenterol*. 46 (7): 581-589. 2012.
12. Kapoor A, Bhatia V, Sibal A. Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Indian Pediatr*. 15;53(11):993-1002, 2016.
13. Martín-de-Carpi J, Rodríguez A, Martínez-Gómez MJ, Medina E, et al; SPIRIT-IBD Working Group of SEGHN . The complete picture of changing pediatric inflammatory bowel disease incidence in Spain in 25 years.*J Crohns Colitis*. 8:763-769; 2014 .

14. Heyman MB, Kirschner BS, Gold BD, Ferry G, Baldassano R, Cohen SA, et al. Children with early-onset inflammatory bowel disease (IBD): analysis of a pediatric IBD consortium registry. *J Pediatr*.146(1):35-40;2005.
15. Benchimol EI, Fortinsky KJ, Gozdyra P, et al. Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review of international trends. *Inflamm Bowel Dis*;17:423–39; 2011.
16. Ashton JJ, Wiskin AE, Ennis S, Batra A, Afzal NA, Beattie RM. Rising incidence of paediatric inflammatory bowel disease (PIBD) in Wessex, Southern England. *rch Dis Child*. 99 (7): 659-64;2014.
17. Timm S, Svanes C, Janson C, Sigsgaard T et al. Place of upbringing in early childhood as related to inflammatory bowel diseases in adulthood: a population-based cohort study in Northern Europe. *Eur J Epidemiol*.29(6):429-37, 2014.
18. Griffiths AM. Specificities of inflammatory bowel disease in childhood. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*.18(3):509-23;2004.
19. Van Limbergen J, Russell RK, Drummond HE, Aldhous MC, Round NK, Nimmo ER, Smith L, Gillett PM, et al. Definition of phenotypic characteristics of childhood-onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*.135(4):1114-22, 2008.
20. Levine A. Pediatric inflammatory bowel disease: is it different? *Dig Dis*;27(3):212-4, 2009.
21. Surawicz CM, Meisel JL, Ylvisaker T, Saunders DR, Rubin CE. Rectal biopsy in the diagnosis of Crohn's disease: value of multiple biopsies and serial sectioning. *Gastroenterology* 80:66–71, 1981.
22. Surawicz CM Serial sectioning of a portion of a rectal biopsy detects more focal abnormalities: a prospective study of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 27:434–436, 1982.
23. Surawicz CM, Belic L. Rectal biopsy helps to distinguish acute self-limited colitis from idiopathic inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 86:104–113, 1984.
24. Jenkins D, Goodall A, Drew K, Scott BB. What is colitis? Statistical approach to distinguishing clinically important inflammatory change in rectal biopsyspecimens. *J Clin Pathol*;41(1):72-9; 1988.
25. Pascal RR, Gramlich TL, Parker KM, Gansler TS. Geographic variations in eosinophil concentration in normal colonic mucosa. *Mod Pathol* 10(4):363-5; 1997.
26. Levine DS, Haggitt RC. Normal histology of the colon. *Am J Surg Pathol*. Nov;13(11):966-84; 1989.
27. Schumacher G, Kollberg B, Sandstedt B. A prospective study of first attacks of inflammatory bowel disease and infectious colitis. Histologic course during the 1st year after presentation. *Scand J Gastroenterol*;29(4):318-32; 1994.
28. Xin W, Brown PI, Greenson JK. The clinical significance of focal active colitis in pediatric patients. *Am J Surg Pathol*.Aug;27(8):1134-8; 2003.
29. DeBrosse CW, Case JW, Putnam PE, Collins MH, Rothenberg ME. Quantity and distribution of eosinophils in the gastrointestinal tract of children. *Pediatr Dev Pathol*.9(3):210-8,2006.

30. Uppal V, Kreiger P, Kutsch E. Eosinophilic Gastroenteritis and Colitis: a Comprehensive Clin Rev Allergy Immunol. 50(2):175-88; 2016.
31. Lowichik A, Weinberg AG. A quantitative evaluation of mucosal eosinophils in the pediatric gastrointestinal tract. Mod Pathol 9:110-14;1996.
32. DeBrosse CW, Case JW, Putnam PE, Collins MH, Rothenberg ME. Quantity and distribution of eosinophils in the gastrointestinal tract of children. Pediatr Dev Pathol. 9(3):210-8;2006.
33. Morgenstern S, Brook E, Rinawi F, Shamir R, Assa A. Tissue and peripheral eosinophilia as predictors for disease outcome in children with ulcerative colitis. Dig Liver Dis. Feb;49(2):170-174, 2017.
34. Rubio CA, Orrego A, Nesi G, Finkel Y. Frequency of epithelioid granulomas in colonoscopic biopsy specimens from paediatric and adult patients with Crohn's colitis. J Clin Pathol;60(11):1268-72; 2007 .
35. Glickman JN, Bousvaros A, Farraye FA, Zholudev A, Friedman S, Wang HH, Leichtner AM, Odze RD. Pediatric patients with untreated ulcerative colitis may present initially with unusual morphologic findings. Am J Surg Pathol;28(2):190-7, 2004.
36. Levine A, Kugathasan S, Annese V, Biank V, et al Pediatric onset Crohn's colitis is characterized by genotype-dependent age-related susceptibility. Inflamm Bowel Dis. (2):1509-15. 2007 Erratum in: Inflamm Bowel Dis. 14(12):1760;2008.
37. Stange EF, Travis SP. The European consensus on ulcerative colitis: new horizons? Gut.57(8):1029-31; 2008.
38. Rutter MD, Saunders BP, Wilkinson KH, Rumbles S, Schofield G, Kamm A, Williams CB, Price AB, Talbot IC, Forbes A. Cancer surveillance in longstanding ulcerative colitis: endoscopic appearances help predict cancer risk. Gut. 53(12):1813-6; 2004.
39. Epstein RJ, McDonald GB, Sale GE, Shulman HM, Thomas ED. The diagnostic accuracy of the rectal biopsy in acute graft-versus-host disease: a prospective study of thirteen patients. Gastroenterology. 78(4):764-71, 1980.
40. Francis N. Light and electron microscopic appearances of pathological changes in HIV gut infection. Baillieres Clin Gastroenterol. 4(2):495-527; 1990.
41. Odze RD, Bines J, Leichtner AM, Goldman H, et al. Allergic proctocolitis in infants: a prospective clinicopathologic biopsy study. Hum Pathol. Jun;24(6):668-74;1993.
42. Kotler DP, Gaetz HP, Lange M, Klein EB, Holt PR. Enteropathy associated with the acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med.101(4):421-8; 1984.
43. Ruemmele FM, Veres G, Kolho KL, Griffiths A, Levine A, et al . Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn disease. J of Crohn's and colitis. 8,1179-1207;2014.
44. Levine YY, Koletzko J, Turner D. [ESPGHAN revised Porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents]. Zhonghua Er Ke Za Zhi. 2;54(10):728-732, 2016.
45. Feakins R. Inflammatory bowel disease biopsies : updated British Society of Gastroenterology reporting guidelines. J Clin Pathol, 66:1005-1026;2013.

46. Jenkins D, Balsitis M, Gallivan S, Dixon MF, Gilmour HM, Shepherd NA, et al. Guidelines for the initial biopsy diagnosis of suspected chronic idiopathic inflammatory bowel disease. The British Society of Gastroenterology Initiative. *J Clin Pathol.* 50(2):93-105; 1997
47. Levine A. Pediatric inflammatory bowel disease: is it different? *Dig Dis* 27(3):212-4; 2009.
48. Ladefoged K, Munck LK, Jorgensen F, Engel P. Skip inflammation of the appendiceal orifice: a prospective endoscopic study. *Scand J Gastroenterol.* 40(10):1192-6; 2005.
49. Robert ME, Tang L, Hao LM, Reyes-Mugica M. Patterns of inflammation in mucosal biopsies of ulcerative colitis: perceived differences in pediatric populations are limited to children younger than 10 years. *Am J Surg Pathol.* (2):183-9, 2004.
50. Laghi A, Borrelli O, Paolantonio P, Dito L, Buena de Mesquita M, Falconieri P, Passariello R, Cucchiara S. Contrast enhanced magnetic resonance imaging of the terminal ileum in children with Crohn's disease. *Gut.* 52(3):393-7; 2003.
51. Mahadeva U, Martin JP, Patel NK, Price AB. Granulomatous ulcerative colitis: are appraisal of the mucosal granuloma in the distinction of Crohn's disease from ulcerative colitis. *Histopathology.* 41(1):50-5; 2002.
52. Rubio CA, Orrego A, Nesi G, Finkel Y. Frequency of epithelioid granulomas Colonoscopic biopsy specimens from paediatric and adult patients with Crohn's colitis. *J Clin Pathol.* 60(11):1268-72; 2007.
53. Mowat C, Cole A, Windsor A, Ahmad T, Arnott I, Driscoll R, Mitto. IBD Section of the British Society of Gastroenterology. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut.* 60(5):571-607; 2011.
54. Sauer CG, Kugathasan S, Martin DR, Applegate KE. Medical radiation exposure in children with inflammatory bowel disease estimates high cumulative doses. *Inflamm Bowel Dis.* 17(11):2326-32; 2011.
55. Wright CL, Riddell RH. Histology of the stomach and duodenum in Crohn's disease. *Am J Surg Pathol.* 22(4):383-90; 1998.
56. Sharif F, McDermott M, Dillon M, Drumm B, Rowland M, Imrie C, Kelleher S. Focally enhanced gastritis in children with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 97(6):1415-20; 2002.
57. Roka K, Roma E, Stefanaki K, Panayotou I, Kopsidas G, Chouliaras G. The value of focally enhanced gastritis in the diagnosis of pediatric inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis.* 7(10):797-802; 2013.
58. Karban A, Itay M, Davidovich O, Leshinsky-Silver E, Kimmel G, Fidler H, Shamir R, Waterman M, Eliakim R, Levine A. Risk factors for perianal Crohn's disease: the role of genotype, phenotype, and ethnicity. *Am J Gastroenterol.* 102(8):1702-8; 2007.
59. Warren BF. Classic pathology of ulcerative and Crohn's colitis. *J Clin. Gastroenterol.* 38(5 Suppl 1):S33-5; 2004.
60. Glickman JN, Bousvaros A, Farraye FA, Zholudev A, Friedman S, Odze RD. Pediatric patients with untreated ulcerative colitis may present initially with unusual morphologic findings. *Am J Surg Pathol.* 28(2):190-7; 2004.

61. Geboes K, Riddell R, Ost A, Jensfelt B, Persson T, Löfberg R. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis. *Gut*.47,404-9; 2000.
62. Levine A, Griffiths A, Markowitz J et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis*. Jun;17(6):1314-21, 2011.
63. Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, Borchard F, et al. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut*. 47(2):251-5, 2000.
64. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, Appelman HD, et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol*.;14(11):931-68;1983.
65. Gerrits MM, Chen M, Theeuwes M, van Dekken H, Sikkema M, Steyerberg E et al. Biomarker-based prediction of inflammatory bowel disease-related colorectal cancer: a case-control study. *Cell Oncol (Dordr)*. 34(2):107-17; 2011.
66. Dorer R, Odze RD. AMACR immunostaining is useful in detecting dysplastic epithelium in Barrett's esophagus, ulcerative colitis and Crohn's disease. *Am J Surg Pathol*; 30(7): 871-7;2006.
67. Blackstone MO, Riddell RH, Rogers BH, Levin B. Dysplasia-associated lesion or mass (DALM) detected by colonoscopy in long-standing ulcerative colitis: an indication for colectomy. *Gastroenterology*. 80(2):366-749; 1981.
68. Pillet S, Pozzetto B, Jarlot C, Paul S, Roblin X. Management of cytomegalovirus infection in inflammatory bowel diseases. *Dig Liver Dis*. 44(7):541-8; 2012.
69. Rutter MD, Saunders BP, Wilkinson KH, Rumbles S, Schofield G, Williams CB, Price AB, Talbot IC, Forbes A. Cancer surveillance in long standing ulcerative colitis: endoscopic appearances help predict cancer risk. *Gut*. 53(12):1813-6; 2004.
70. Heuschen UA, Allemeyer EH, Hinz U, Autschbach F, Uehlein T, Herfarth C, et al Diagnosing pouchitis: comparative validation of two scoring systems in routine follow-up. *Dis Colon Rectum*. 5(6):776-86; 2002.
71. Cassieri C, Brandimarte G, Elisei W, Lecca GP, Goni E, Penna A, Tursi A. How to Differentiate Segmental Colitis Associated With Diverticulosis and Inflammatory Bowel Diseases. *J Clin Gastroenterol*. 50 Suppl 1:S36-8; 2016.
72. Tursi A, Inchingolo CD, Picchio M, Elisei W, Mangiola F, Gasbarrini G. Histopathology of segmental colitis associated with diverticulosis resembles inflammatory bowel diseases. *J Clin gastroenterol*.;49(4):350-1, 2015.
73. Muise A.M., Snapper S.B., and Kugathasan S. The age of gene discovery in very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* :285-288; 2012.
74. Moran CJ, Klein C, Muise AM, Snapper SB. Very early-onset inflammatory bowel disease: gaining insight through focused discovery. *Inflamm Bowel Dis*. 1166-1172; 2015.
75. Gupta N, Bostrom AG, Kirschner BS, et al. Presentation and disease course in early-compared to later-onset pediatric Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*.16(4):2092-2098;2008.

76. Griffiths AM. Specificities of inflammatory bowel disease in childhood. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 18(3):509-523;2004.
77. Chandrakasan S, Venkateswaran S, Kugathasan S. Nonclassic Inflammatory Bowel Disease in Young Infants: Immune Dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X linked syndrome and other disorders. *Pediatr Clin North Am.* 64(1):139-160;2017.
78. Stange EF, Travis SP. The European consensus on ulcerative colitis: new horizons? *Gut.* 2008 Aug;57(8):1029-31. doi: 10.1136/gut.2007.





# Enfermedades metabólicas de la infancia

Cristina Jou Muñoz

*Hospital Sant Joan de Deu Barcelona*

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades metabólicas se caracterizan por una disrupción determinada genéticamente de una o varias rutas metabólicas dando lugar a síntomas clínicos debidos al déficit del producto de la ruta metabólica o a la toxicidad causada por el acúmulo de compuestos intermedios. Esto da lugar a tres categorías dentro de las enfermedades metabólicas: por intoxicación, por depósito de metabolitos o por deficiencia energética.

La mayoría de estas enfermedades tienen una herencia autosómica recesiva, siendo infrecuente la sintomatología en individuos heterocigotos. Algunas son de herencia ligada al cromosoma X, y en este caso los individuos heterocigotos sí presentan sintomatología clínica. La clínica de estos pacientes es de signos y síntomas neurológicos así como retraso en la adquisición de hitos motores y/o cognitivos. En neonatos se puede presentar como una sepsis o asfixia. Debemos pensar en enfermedad metabólica cuando exista historia de abortos de repetición o muerte súbita.

Aunque en muchas de estas entidades no hay una terapia específica, el diagnóstico preciso es importante para el pronóstico, asesoramiento genético y planificación del diagnóstico prenatal.

## II. DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES METABÓLICAS GENÉTICAS:

La mayoría de los errores innatos del metabolismo (EIM) se identifican utilizando test bioquímicos que determinan la presencia de un metabolito anómalo. Analizar los niveles de glucosa, lactato y amoníaco en plasma es útil para identificar neonatos con EIM, aunque raramente permiten hacer un diagnóstico específico. Actualmente existen sistemas de detección más específicos para identificar metabolitos intermedios; siendo éstos de vital importancia en el periodo neonatal.

### **Aminoácidos:**

Los EIM que interrumpen el catabolismo de los aminoácidos en las primeras etapas de una vía pueden ser diagnosticados estudiando el contenido de aminoácidos en fluidos corporales como sangre u orina. Actualmente la mayoría se identifican por espectrometría de masas en tándem, técnica sensible y específica que facilita la separación de todos los aminoácidos fisiológicos en picos individuales.

### **Ácidos grasos y orgánicos:**

El metabolismo de los ácidos grasos puede ser estudiado por cromatografía de gases, espectrometría de masas, espectrometría de masas en tándem y resonancia magnética nuclear utilizando orina, la sangre y el líquido cerebral raquídeo (LCR).

### **Análisis de neurotransmisores:**

El análisis cromatográfico de LCR para el estudio de neurotransmisores es útil en el diagnóstico de distonías y epilepsias de inicio temprano.

### **Análisis enzimático:**

La identificación de un catabolito acumulado requiere confirmación con análisis del enzima implicado en células (leucocitos, linfocitos, fibroblastos), tejido (músculo, hígado, mucosa intestinal), plasma o suero.

### **Histología y inmunocitoquímica:**

El acúmulo de metabolitos específicos puede ser reconocido mediante estudio histológico o histoquímico y es útil tanto en el diagnóstico de enfermedades de depósito de glucógeno, donde los depósitos se observan en tejidos afectados, como en las enfermedades de depósito lisosomales, donde el depósito de lípidos y glicoproteínas conduce a una vacuolización intracelular. El estudio histoquímico de tejido muscular puede ser de gran ayuda para definir las enfermedades mitocondriales.

El examen rutinario placentario puede revelar enfermedad fetal de almacenamiento metabólico observando presencia de vacuolización de sincitiotrofoblasto, trofoblasto intermedio y de las células estromales de Hofbauer.

Con el estudio citológico de extendidos de sangre periférica podremos observar linfocitos microvacuolados en distintas entidades:

- GM1 gangliosidosis, infantil
- Niemann-Pick A/C
- Sialidosis
- Mannosidosis
- Fucosidosis
- Enfermedades por depósito de ácido sialico
- Mucopolisacaridosis II/III
- Lipofuscinosis neuronal ceroides juvenil
- Glucogenosis tipo II
- Enfermedad de Wolman
- Mucopolisacaridosis II

### **Estudio autopsico:**

El estudio macroscópico y microscópico de los órganos de fetos y neonatos con características macroscópicas determinadas puede ayudar a orientar el diagnóstico metabólico, excluyendo otras etiologías. El estudio de la placenta es obligado, siendo importante que ambos lleguen en fresco lo más rápido posible y recoger muestras para poder realizar estudios bioquímicos y moleculares posteriores.

Es obligado el estudio radiológico del feto (placa antero-posterior y lateral).

Tabla 1. Características orientativas de entidades

Rasgos dismórficos	Hidrops	Anomalías radiológicas	Afectación cardiaca	Quistes renales
Aciduria glutarica tipo II	MPS I/Hurler	E. síntesis de colesterol	E. mitocondrial: S. Barth, mutación en TAZ	E. peroxisomal (Zellweger)
Piruvato dehidrogenasa	MPSIV/Morquio A	E. peroxisomal	Déficit de carnitina palmitol transferasa tipo II	Defectos $\beta$ -oxidación
Síndrome de Zellweger	MPSVII/Sly	Deficiencia de aril sulfatasa E	Glucogenosis tipo II	Congenital disorders glycosylation
Refsum infantil	Mucopolipidosis II	Enf depósito lisosomal	Gaucher	E. Mitocondriales: Pearson
Condrodisplasia rizomiélica puntacta	Sialidosis II	CDG	Mucopolipidosis II	
Gangliosidosis GM	Galactosialidosis	Hipofosfatasa	GM1 gangliosidosis	
Sialidosis	Niemann-Pick C		Sialidosis	
Mucopolipidosis tipo II	Gaucher II		Galactosialidosis	
Mucopolisacari-dosis	GM1 gangliosido			
E. de depósito de ácido sialico	E. mitocondriales: Pearson o Barth			
E. de depósito Gaucher like.	Metabolismo glucosa: G 6 PD			
Déficit de fosforilasa muscular	MTB glucosa: Piruvato quinasa			
	MTB glucosa: GPI			

**Tabla 2A. Enfermedades metabólicas por afectación de órganos**

Enfermedad	Tejido	Manifestación	Test presuntivo	Test diagnóstico
Deficiencia de $\alpha$ -1-antitripsina	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	$\alpha$ -1-antitripsina en plasma	Electroforesis Biopsia hepática Inmunohistoquímica Microscopia Electrónica (ME)
Enfermedad por depósitos de esteres de colesterol	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Biopsia hepática	Estudio de lipasa acida
Mucopolisacari- dosis	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Cuantificación de mucopolisacáridos en orina. ME biopsia conjuntiva	Análisis del enzima específico
	BAZO	Esplenomegalia		
	HUESO	Disóstosis múltiple		
	OJO	Macula rojo cereza		
Glicoproteinosis	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Oligosacáridos en orina. ME biopsia conjuntiva	Análisis del enzima específico
	HUESO ARTICULACIÓN			
	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo		
Mucopolipidosis II, III	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Oligosacáridos en orina. ME de biopsia conjuntiva	Análisis de enzimas lisosomales en fibroblastos
	OJO	Macula rojo cereza		
Glucogenosis tipo II	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Biopsia hepática. Biopsia muscular. ME	ME Estudio de $\alpha$ -glucosidasa en linfocitos o fibroblastos
	MÚSCULO ESQUE- LET CARDIACO	Miopatía Cardiomegalia Fallo cardiaco		
Glucogenosis tipo III y IV	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Biopsia hepática. ME	Análisis del enzima específico

Tabla 2B. Enfermedades metabólicas por afectación de órganos (continuación)

Enfermedad	Tejido	Manifestación	Test presuntivo	Test diagnóstico
Enfermedad de Gaucher	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Células de Gaucher en hígado, médula ósea. Serum: ↑ hexosaminidasa o fosfatasa ácida	Estudio de β-Glucosidasa en leucocitos y fibroblastos. ME
	BAZO	Esplenomegalia		
	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo		
Niemann-Pick	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Biopsia conjuntiva. Biopsia hepática. ME biopsia hepática.	Estudio de esfingomielinasa en leucocitos y fibroblastos
	BAZO	Esplenomegalia		
	OJO	Macula rojo cereza		
	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo		
Enfermedad de Wolman	HÍGADO	Hepatomegalia Disfunción hepática	Biopsia hepática	Estudio de lipasa ácida en fibroblastos
	ADRENALES	Calcificación adrenal bilateral		
Enfermedad de Farber	HUESOS/ ARTICULACIÓN	Hinchazón articular, nódulos tejidos blandos	ME tejido	Cultivo de fibroblastos. ceramidasa ácida lisosomal

Tabla 2C. Enfermedades metabólicas por afectación de órganos (continuación)

Enfermedad	Tejido	Manifestación	Test presuntivo	Test diagnóstico
Enfermedad de Tay-Sachs	OJO	Macula rojo-cereza	Hexosaminidasa en suero.	Estudio de hexosaminidasa A en leucocitos o fibroblastos.
	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo		
Enfermedad Sandhoff	OJO	Macula rojo-cereza	Hexosaminidasa total sérica.	Estudio de Hexosaminidasa total en leucocitos o fibroblastos.
Gangliosidosis generalizada	OJO	Macula rojo-cereza	Determinación de $\beta$ -galactosidasa; ocasionalmente con cromatografía capa fina incremento de oligosacáridos urinarios. Biopsia conjuntiva o medula ósea. ME	Estudio de galactosidasa en leucocitos o fibroblastos
	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo		
Sialidosis	OJO	Macula rojo-cereza	Oligosacáridos en orina. Biopsia conjuntiva	Estudio en fibroblastos de sialidasa
Cistinosis	OJO	Macula rojo-cereza	Cristales de cistina en tejidos.	Cistina en leucocitos o fibroblastos
Enfermedad de Krabbe	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo	Biopsia conjuntiva para ME. Incremento de proteína en LCR	Galactocerebrosidos $\beta$ -galactosidasa en leucocitos o cultivo de fibroblastos
Leucodistrofia metacromática	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo	Biopsia conjuntiva para ME.	Estudio de Arilsulfatasa. Cultivo de fibroblastos
Lipofuscinosis neuronal ceroides	CEREBRO	Retraso psicomotor progresivo	Proteínas en LCR. Biopsia de nervio sural. Estudios de conducción neural.	Biopsia para ME de piel o conjuntiva.

### III. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE MUESTRAS ANTE SOSPECHA DE MUERTE DE POSIBLE ORIGEN METABÓLICO O DIAGNÓSTICO DESCONOCIDO (HOSPITAL SANT JOAN DE DÉU - BARCELONA):

#### 1. Sangre:

- 1.1. 5ml en tubo EDTA. Centrifugar para la obtención del plasma y almacenar a -20°C.
- 1.2. 2ml en tubo con gel separador. Centrifugar para la obtención de suero. Almacenar a -20°C.
- 1.3. 10-15ml tubo EDTA potásico para extracción de DNA. Almacenar a 4°C.

2. **Sangre seca:** papel de filtro del "Diagnóstico precoz". Almacenar a temperatura ambiente.
3. **Orina:** 10-15ml (punción suprapúbica o sondaje, puede hacerse postmortem). Si no es posible extraer orina recoger humor vítreo (punción de globo ocular). En ambos casos almacenar a -20°C.
4. **Biopsia de piel:** Recoger de manera estéril con un punch de 0'5cm de diámetro, limpiar previamente la zona con alcohol. Sumergir la biopsia en medio de cultivo (medio de Hanks almacenado a 4°C). Almacenar a temperatura ambiente.
5. **Biopsia de hígado y músculo.** Congelar de inmediato en nitrógeno líquido y almacenar a -80°C.
6. **La hepática** se recomienda dividirla para análisis bioquímico funcional y estudio morfológico.

Los tejidos se deben recoger en las primeras seis horas postmortem. Otros tejidos que pueden recogerse según criterio clínico: intestino, corazón, riñón, etc.

#### IV. ENFERMEDADES DE DEPOSITO LISOSOMAL (EDL)

Las EDL son particularmente raras, afectando a 1:8.000 nacimientos. Hay aproximadamente 400 EDL. Se caracterizan por deficiencias enzimáticas que dan acúmulo de moléculas en el lisosoma, ocasionando disfunción multiorgánica. El material almacenado en las células afectadas incluye lípidos, esfingolípidos, fosfolípidos, esfingomielinas, lipofuscinas, polisacáridos, mucopolisacáridos, etc.

##### 1. Mucopolisacaridosis (MPS)

Se distinguen por el depósito de glicosaminoglicanos (GAGs) y glicolípidos en los lisosomas de fibroblastos, macrófagos, linfocitos, hepatocitos, células renales y neuronas.

En los tejidos extraneurales fijados en fijador acuoso, las células afectadas muestran cierta vacuolización citoplasmática e hinchazón celular. Ultraestructuralmente las vacuolas contienen un material finamente granular rodeado por una membrana acompañada de lípidos. Cuando el tejido se fija en fijadores insolubles como el alcohol, los acúmulos muestran una intensa metacromasia (coloración azul púrpura) con azul de toluidina; tiñéndose intensamente con azul alcian, y de forma débil con Periódico ácido-Schiff (PAS) y con hierro coloidal.

En las neuronas el material que distiende el citoplasma se muestra como PAS positivo diastasa resistente, indicando que la sustancia no es glucógeno. Muestran metacromasia con azul de toluidina, así como tinción para sudan negro, azul nilo o azul alcian.

El acúmulo de mucopolisacárido intracelular también puede encontrarse en algunas otras enfermedades clínicamente muy diferentes, como la enfermedad de Fabry (Enfermedad de almacenamiento por lípidos), el síndrome de Marfan (Trastorno del tejido conectivo) y fibrosis quística del páncreas (Trastorno de transporte de membrana).

El prototipo de MPS es el síndrome de Hurler. La forma más grave resulta de una deficiencia de  $\alpha$ 1-iduronidasa con la acumulación de sulfatos de heparan y dermatan. El fenotipo clínico aparece al final del primer año de vida con una facies tosca con huesos largos cortos con enanismo (disostosis múltiple). Pueden presentar hepatoesplenomegalia y retraso mental asociado a afectación cardíaca con acúmulo de GAGs en células miocárdicas, así como en las valvas cardíacas.

##### 2. Enfermedades de depósito de glicoproteínas

Las glicoproteínas presentan un núcleo peptídico en el que se conectan las cadenas de oligosacáridos.

Tabla 3. Enfermedades de depósito de glicoproteínas

Enfermedad	Herencia	Defecto enzimático	Patología
Fucosidosis Tipo I Tipo II Tipo III	AR	alfa-1-fucosidasa	Fenotipo Hurler-like Depósito de lisosomas en macrófagos, fibroblastos, endotelios y neuronas
$\alpha$ -manosidosis	AR	$\alpha$ -manosidasa	Fenotipo Hurler-like Depósito en macrófagos, linfocitos, retina, encías, neuronas mientéricas y centrales.
$\alpha$ 2 antitripsina	AR	$\alpha$ 2 antitripsina	Cirrosis neonatal
Aspartylglucosamina	AR	N-aspartyl	Fenotipo Hurler. Retraso mental (RM)
Enfermedad por depósito de ácido sialico	AR	$\beta$ -glucosaminidasa	Hipotonía, defectos oculares, RM.
Enfermedad de Salla	AR	Sialidasa	Hipertonía, defectos oculares, RM
Enfermedad infantil por depósito de ácido sialico	AR	Sialidasa	Hidrops, hepatoesplenomegalia
Enfermedad de Caravan	AR	N-acetil-aspartata	Degeneración espongiótica SNC
Enfermedad de depósito glutamil ribosa-5-fosfato	AR	Proteína ADP-ribosa hidrolasa	Fenotipo Hurler. Depósito en epitelio renal y conjuntiva
Enfermedad por depósito de glicoproteínas	AR	¿?	Depósito en macrófagos de medula ósea y bazo
Displasia Geleofísica	AR	¿?	Depósito de glicoproteínas en células hepáticas, cartílago, MCF, células respiratorias y epidérmicas.
Síndrome de glicoproteínas deficientes de carbohidratos.	AR	¿?	Fenotipo dismórfico, retraso psico-motor, ataxia, neuropatía periférica, episodios stoke-like. Esteatosis hepática. Degeneración pontocerebelosa. Microquistes renales.

### 3. Enfermedades de depósito lisosomal de lípidos

El gran número de enfermedades de almacenamiento de lípidos lisosómicos existente refleja la amplia variedad de moléculas - triglicéridos, esteroides, esfingolípidos, sulfatidos, esfingomielinas, gangliósidos y lipofuscinas - que deben ser degradadas por hidrolasas ácido lisosomales.



Tabla 4. Enfermedades de depósito lisosomal de lípidos

	Enfermedad		Órgano	Patología
Enfermedades de depósito de esteres de colesterol	E. Wolman	AR	Hígado Adrenal Medula ósea linfocitos SNC	Hepatomegalia con células espumosas en área periportal en hepatocitos y Kupffer. Necrosis adrenal con calcificaciones Depósito de triglicéridos Histiocitos cargados con lípidos en medula ósea y sangre periférica. Visualización de los cristales de colesterol y los lípidos lisosomales usando luz birrefringente en tejidos no fijados y con ME
E.D por esfingomielina	Niemann-Pick A	AR	Hígado Bazo Medula ósea Pulmón SNC	Histiocitos (diámetro 20 a 90 µm) espumosos o "blue-sea" con citoplasma microvacuolado y núcleo desplazado a la periferia. Pigmento de lipofucsina. Tinción para Oil red O, luxol fast blue y OTAN +++.
	Niemann-Pick B	AR	Hígado Bazo Medula ósea Pulmón NO neuronas	PAS -/débil + Tinción inmunohistoquímica con filipin. ME: Figuras de mielina-like con configuración concéntrica laminada con una periodicidad de 50nm.
	Niemann-Pick C/D	AR	Viceromegalia SNC	
E.D Cerebrosidos	Gaucher		SNC Bazo Hígado (Kupfer) Médula ósea Timo	Células de Gaucher (60-80µm), citoplasma estriado con tinción para tricromico Actividad fosfatasa ácida +++ ME: lisosomas con forma alargada tubular. 2A: No deposito en neuronas 2B: Deposito en neuronas.
	Krabbe	X	SNC	Células multinucleadas de citoplasmas microvacuolados (Globoide) con tinción + para sudan negro en sustancia blanca cerebral. En espacios perivascuales células PAS + de 15-20 µm. ME: lisosomas con forma alargada tubular.
	Farber Lipogranulomatosis	AR	Tejidos blandos Articulaciones Laringe Hígado	Reacción granulomatosa con MCF espumosos. Células ganglionares vacuoladas. ME: estructuras curvilíneas tubulares y material reticulogranular rodeado de membrana citoplasma MCF. Cuerpos Zebra.
	Fabry Angioqueratoma corporal difuso	X	Riñón Corazón Piel SNC	Deposito en epitelio glomerular y tubular, miocardiocitos, neuronas y en endotelios. Vacuolas. Tejido congelado: Sudan negro +, PAS + ME: Deposito lisosomal concéntrico o láminas paralelas con una periodicidad de 4-55nm.

	Enfermedad		Órgano	Patología
Gangliosidosis	GM1 tipo 1/2 GM2 tipo 1 (Tay-Sachs) GM2 tipo 2 (Sandhoff)	AR	Hígado Riñón Páncreas SNC	Depósito de gangliosidos y mucopolisacáridos en células. Deposito neuronal material sudan negro + ++ y PAS+ . ME: Cuerpos concéntricos en piel o conjuntiva.
E.D. Sulfatida	Leucodistrofia metacromática	AR	Hígado Bazo Riñón SNC y P	Tinción metacromática marrón con violeta de cresyl y azul de toluidina.

#### 4. Enfermedades de depósito ceroid

**Lipofuscinois neuronal ceroid:** Se caracteriza por el depósito en lisosomas de tejidos neurales y extraneurales de lipopigmentos autofluorescentes de aspecto ceroid, resistentes a disolventes polares y no polares tiñéndose con PAS, Sudan negro B, aceite rojo O, fucsina ácida y fosfatasa ácida.

El diagnóstico puede aproximarse haciendo el estudio ultraestructural de piel, conjuntiva, mucosa rectal, apéndice o linfocitos mostrando una estructura de cuerpos residuales o citosomas y pudiéndose apreciar una membrana unitaria trilaminar, indicando la estructura del cuerpo residual lisosomal.

#### 5. Enfermedades de carbohidratos y del metabolismo de la fructosa

**Galactosemia:** Deficiencia de galactosa-1-fosfato uridiltransferasa (G1PUT). Da lugar a acumulación de galactosa, galactosa-1-fosfato y galactitol en los tejidos. El déficit enzimático puede demostrarse en hematíes, linfocitos, fibroblastos e hígado.

Morfológicamente marcada esteatosis hepática con un cambio pseudoacinar de la arquitectura hepática con proliferación ductular, colestasis, necrosis focal y finalmente cirrosis. Puede acompañarse de hiperplasia de los islotes pancreáticos y vacuolización del epitelio tubular renal. Estos mismos cambios morfológicos los observaremos en la Intolerancia a la fructosa hereditaria y en la tirosinemia.

#### 6. Enfermedades por depósito de glucógeno

Tabla 5A. Enfermedades por depósito de glucógeno

Tipo		Defecto enzimático	Clínica	Patología	Tejido
0	AR	Glucógeno sintetasa	Hipoglucemia. Fibrosis hepática	Glucógeno presente	Hígado Músculo Linfocito
IA/IB/IS GSD	AR	Glucosa-6-fosfatasa	Hepatoesplenomegalia. Xantomas eruptivos Hipoglucemia sin respuesta al glucagón o epinefrina. Hiperlipidemia.	Distribución uniforme del glucógeno con distensión de hepatocitos. Patrón en mosaico. Vacuolas lipídicas grandes y pequeñas, glicogenación nuclear. ME: incremento uniforme de glucógeno de apariencia normal, gotas lipídicas entre el glucógeno. No afectación muscular.	Hígado
II/ Pompe	AR	$\alpha$ -1,4-glucosidasa	Cardiomegalia, hepatomegalia, hipotonía. Macroglosia	<b>Hígado:</b> Distensión uniforme de los hepatocitos, microvacuolización. No patrón en mosaico. ME: vesículas de glucógeno rodeadas de membrana. <b>Músculo:</b> Vacuolas con depósito de glucógeno. ME: Abundante glucógeno libre y en vesículas. Pérdida de miofibrillas.	Hígado Músculo Linfocito Amniocito Fibroblasto (FB)

**Tabla 5B. Enfermedades por depósito de glucógeno (continuación)**

Tipo		Defecto enzimático	Clínica	Patología	Tejido
III/ <b>Forbes</b> Cori	AR	Amilo 1,6-glicosidasa	Hipoglucemia con respuesta al glucagón	<b>Hígado:</b> Distensión uniforme de las células hepáticas debido al glucógeno. Patrón en mosaico, glucogenación nuclear, pequeñas gotas lipídicas. ME: igual que tipo I. <b>Músculo</b> normal o acumulo subsarcolemal.	Hígado Músculo Linfocitos
IV/ <b>Ander- son</b> Amilo- pecti- nosis	AR	Amilo-1,4 a 1,6-transglucosidasa	Hepatoesplenomegalia. Cirrosis. Afectación SNC. Muerte súbita en infancia. Distrofia muscular.	<b>Hígado</b> pálido. Material anfofílico hialino, vacuolado PAS+, diastasa resistente (amilopectina) en hepatocitos periportales con vacuolas lipídicas grandes. Formación de septos fibrosos que progresan a cirrosis. ME: agregados fibrilares. <b>Músculo:</b> depósitos de amilopectina. PAS+ diastasa resistente.	Músculo Linfocito Amniocito FB
V/ <b>McArd- le</b>	AR	Miofosforilasa	Dolor muscular. debilidad después del ejercicio. Mioglobinuria	<b>Músculo:</b> Deposito de glucógeno subsarcolemal. Ausencia de tinción histoquímica para miofosforilasa. ME: Deposito de glucógeno subsarcolemal. <b>Hígado</b> normal.	Músculo
VI/ <b>Hers</b>	AR	Hepatofosforilasa	Hepatomegalia, leve a moderada. Hipoglucemia. Buen pronostico	<b>Hígado:</b> distensión no uniforme de los hepatocitos Patrón en mosaico. Formación de septos. Pequeñas gotas lipídicas. ME.: Glucógeno, rosetas, vacuolas de lípidos con glucógeno. <b>Músculo:</b> Normal	Hígado Linfocitos Hematíes
VII/ <b>Tariu</b>	AR	Fosfofructo quinasa muscular	Rampas musculares. Mioglobinuria. Buen pronostico	<b>Músculo:</b> Glucógeno subsarcolemal. Ausencia de tinción histoquímica con fosfofructoquinasa. ME: Glucógeno subsarcolemal	Músculo Linfocitos FB

Tabla 5C. Enfermedades por depósito de glucógeno (continuación)

Tipo		Defecto enzimático	Clínica	Patología	Tejido
Deficiencia fosforilasa del hígado y músculo	AR	Fosforilasa b kinaasa hepática	Hepatomegalia. Retraso crecimiento. Deterioro neurológico progresivo. Lipidemia.	<b>Hígado:</b> Distensión no uniforme de los hepatocitos debido al glucógeno. Patrón en mosaico. <b>ME:</b> Glucógeno, vacuolas de lípidos con glucógeno . <b>Músculo:</b> Glucógeno subsarcolemal.	Hígado Sistema nervioso central. Glucógeno en axones y sinapsis
VIII	XLR	Fosforilasa kinaasa hepática, $\alpha$ -2-subunidad	Marcada hepatomegalia. Leve retraso motor Hipoglicemia leve.	<b>Hígado:</b> Distensión no uniforme de los hepatocitos. Irregularidad en el tamaño del glucógeno. Patrón en mosaico. Formación de septos. Gotas lipídicas pequeñas. <b>ME:</b> Similar tipo VI. <b>Músculo:</b> Normal.	Hígado
X	AR	3-5 AMP dependientes de quinasa.	Hepatomegalia. Afectación hepática y muscular. Buen pronóstico.	<b>Hígado:</b> Distensión no uniforme de los hepatocitos Patrón en mosaico. Formación de septos. Pequeñas gotas lipídicas <b>ME:</b> Similar a tipo VI <b>Músculo:</b> Glucógeno subsarcolemal	Hígado Musculo

## VI. ENFERMEDADES ASOCIADAS A ALTERACIONES EN AMINOÁCIDOS

**Fenilcetonuria:** Trastorno de herencia autosómica recesiva más frecuente debido al déficit de fenilalanina hidroxilasa y cofactores (tipo I, II y III). Morfológicamente presenta afectación de sustancia gris y blanca, con desproporción de los lóbulos cerebrales y anomalías en las circunvoluciones. En sustancia blanca hay desmielinización y gliosis con macrófagos cargados de lípidos. Pérdida neuronal extensa con reducción de la cantidad de procesos dendríticos en las células de Purkinje.

## VII. ENFERMEDADES MITOCONDRIALES

Grupo amplio y complejo de enfermedades producidas por una alteración en el sistema de fosforilación oxidativa mitocondrial. Presentan afectación multiorgánica. La biopsia muscular es necesaria para tipificarlas con el estudio bioquímico de la cadena respiratoria y el morfológico y/o histoquímico. Los hallazgos histológicos más característicos son la presencia de fibras rojo-rotas asociada o no a fibras COX negativas. El ME revela alteraciones en mitocondrias como inclusiones paracristalinas.

## VIII. ENFERMEDADES PEROXISOMALES

Son un grupo de trastornos en los que la principal causa es el fracaso para formar o mantener el peroxisoma, o una disfunción de la única enzima que se encuentra en el peroxisoma. Niveles anormalmente altos de VLCFA en tejidos y fluidos corporales. La identificación morfológica del trastorno peroxisomal requiere técnicas histoquímicas, inmunohistoquímicas y de ME.

Tabla 6. Enfermedades peroxisomales

	ADLD-X	Refsum	Acatala- semia	Zellwe- ger	AID neo- natal	Refsum infantil	Condro- displasia punctata	Acidemia hiperpi- pecolica
Herencia	Ligada al X	AR	AR	AR	AR	AR	AR	AR
Sexo	Varones	M&V	M&V	M&V	M&V	Varones	M&F	Varones
Ano- malías faciales	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Presente	Ausentes	Presente	Típica fascies	(-)
Quistes renales	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Presente	Ausentes	(-)	+	(-)
Ca++ patelar	(-)	(-)	(-)	Presente	(-)	(-)	+	Ca++ puntea- das
Cataratas	(-)	(-)	(-)	+	(-)	(-)	+	+
Adrena- les	Atrofia	Hipopla- sia	No afecta	No afecta	Atrofia	No afecta	No afecta	No afecta
Fibrosis hepática	Ausente	(-)	(-)	+++	leve peri- portal	Ausente	Ausente	No afecto
Siderosis hepática	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Desmieli- niza- ción SNC	+	(-)	(-)	+	+	(-)	(-)	(-)
Hete- rotopia neuronal	(-)	(-)	(-)	+	(-)	(-)	(-)	+
ME inclu- siones lamelares	SNC Adrena- les		(-)	(-)	++	(-)	(-)	(-)
ME: Peroxi- somas hepáticos	Normales	Normales	Normales	Ausentes + ausentes en riñón	↓	Ausentes	↓, au- sentes a veces grandes	↓

ADLD-X: Adrenoleucodistrofia ligada al X. (-) no reportado

### VIII. ENFERMEDADES DEL METABOLISMO DE LOS METALES

**Hemocromatosis neonatal:** Clínica y patológicamente definida como una enfermedad hepática intraútero asociada con siderosis extrahepática. En suero hiperferritinemia. En el hígado observaremos colestasis y transformación de células gigantes. Fibrosis difusa intraacinar, proliferación colangiolar y cirrosis puede estar presente al nacimiento. Observaremos acumulo de hierro en hígado siendo masivo en hepatocitos y en menor cantidad en el epitelio biliar y células de Kupffer. Puede acumularse en: pancreas, riñón, adrenales y tiroides. ME: masas electrodensas y formaciones membranosas.

**Enfermedad de Wilson:** Enfermedad autosómica recesiva. Alteración en el metabolismo del cobre. Incremento del cobre y disminución de los niveles de ceruloplasmina hepáticos y en suero. Presencia de cobre

hepático tiñendo con rodanina o ácido rubeánico. Las proteínas asociadas al cobre se pueden teñir con orceína o fucsina. ME: mitocondrias con marcado plemorfismo, los espacios entre las crestas son amplios y formación de quistes en la punta de las crestas.

**Enfermedad de Menkes:** Enfermedad hereditaria ligada al X por alteración en el metabolismo del cobre, debido a una alteración en la absorción intestinal lo que conlleva a niveles bajos séricos de cobre y ceruloplasmina.

## IX. CONCLUSIONES

La mayor parte de los EIM se diagnostican mediante estudio bioquímico, pero existen determinadas entidades donde un paso importante entre los hallazgos clínicos y el diagnóstico bioquímico es la aportación de la Anatomía Patológica, incluyendo histología, histoquímica, inmunohistoquímica, y la ME.

Es de vital importancia el diagnóstico prenatal para diagnosticar a estos pacientes de forma temprana permitiendo en algunas entidades un tratamiento en fases presintomáticas.

La recogida y almacenaje de muestras en aquellos casos de muerte no aclarada para poder hacer estudios bioquímicos y morfológicos es un punto clave en el proceso diagnóstico de estos pacientes, ya que nos permitirá poder hacer el diagnóstico postmortem.

## Bibliografía

1. Antenatal manifestations of inborn errors of metabolism: autopsy findings suggestive of a metabolic disorder. Collardeau-Franchon et al. *J. Inherith Metab Dis.* 2016; 39:597-610
2. Inborn Metabolic disease. Diagnosis and Treatment. Saudubray JM. 6th edition 2016. Springer
3. Potter's Pathology of the fetus, Infant and child. Gilbert-Barnes (Eds). 2 edition 2007. Mosby
4. Fetal and Neonatal Pathology. Keeling J. (Eds). 4 edition 2007. Springer

Tablas modificadas de la bibliografía.





# Patología de la Epilepsia: Displasia cortical focal

Inmaculada de Prada

*Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid*

## I. CONSIDERACIONES GENERALES

El substrato anatómo-patológico de los enfermos que sufren epilepsia fármaco resistente es amplio y variado e incluye malformaciones del desarrollo cortical, esclerosis del hipocampo, tumores, inflamaciones (encefalitis de Rasmussen) lesiones vasculares y lesiones isquémicas.

La incidencia de las distintas patologías varía según la edad del enfermo, así, en adultos la causa más frecuente es la Esclerosis del Hipocampo, mientras que en niños son las malformaciones del desarrollo cortical. Esta guía práctica se enfocará sobre la patología más frecuentemente observada en edad pediátrica, en concreto las malformaciones del desarrollo cortical y dentro de ellas las displasia corticales (DCF).

Las malformaciones del desarrollo cortical representan un amplio rango de lesiones corticales que se producen como consecuencia de alteraciones en las distintas fases del desarrollo cortical: proliferación y diferenciación glioneuronal, migración neuronal y organización intracortical<sup>1</sup>. La DCFI es un tipo de malformación del desarrollo cortical junto con la Hemimegalencefalia y la Esclerosis tuberosa, que se da más frecuentemente en la epilepsia fármaco resistente en edad pediátrica<sup>2</sup> con una incidencia, según diferentes autores, entre 58-75%<sup>3</sup>. Los distintos tipos de DCF constituyen un grupo heterogéneo de desórdenes con características clínico-radiológicas y electroencefalográficas variables y no específicas, que comparten desde el punto de vista histológico una de sus características: la alteración de la arquitectura cortical<sup>4</sup>.

Desde su descripción en 1971 por Taylor y Falconi se han sucedido diferentes clasificaciones histopatológicas: Michel et al. 1995<sup>5</sup> Tassi et al. 2002<sup>6</sup>, Palmiini et al. 2004<sup>7</sup>, con el fin de correlacionar las características electro-clínicas y radiológicas con las alteraciones histológicas observadas y con su significado pronóstico.

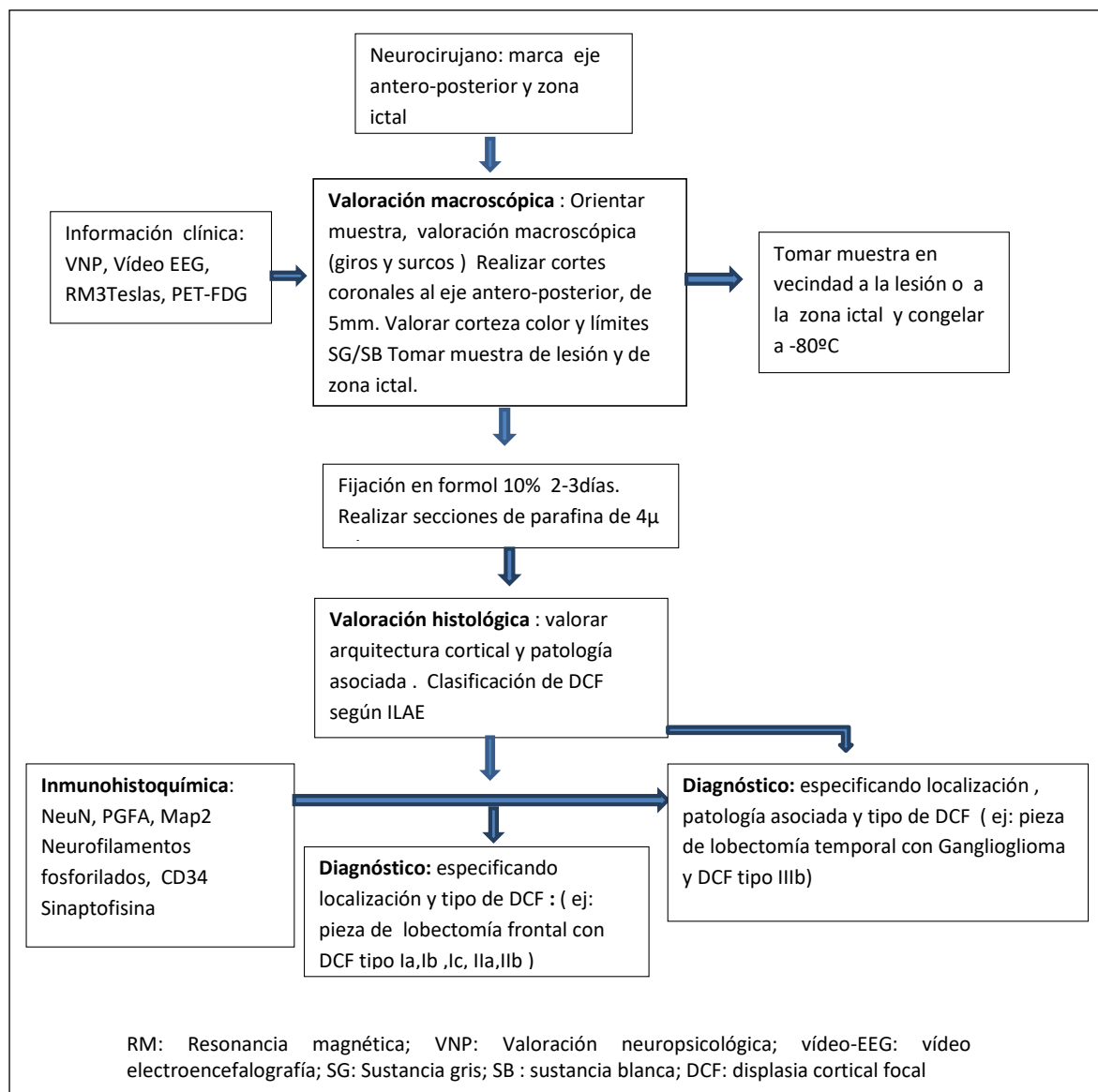
En 2011 la ILAE (International league against epilepsy)<sup>4</sup> propone un nuevo sistema de clasificación clínico-patológico con consenso internacional y que permite definir mejor los distintos grupos de DCF desde una nueva evaluación de las características electro-clínicas, radiológicas, neuropatológicas y de evolución postquirúrgica. El nuevo sistema, partiendo de aspectos histológicos, electro-clínicos y radiológicos ya descritos en las anteriores clasificaciones, divide las DCF en tres grupos, tipo I, II y III que subdivide en distintos subtipos dependiendo de las alteraciones arquitecturales y/o citológicas observadas, así como de su asociación a otras patologías.

Si bien hay abundantes trabajos publicados sobre hallazgos histopatológicos de las malformaciones corticales y en concreto de las displasias corticales focales, poco se ha publicado con respecto al manejo macroscópico de las piezas procedentes de la cirugía de la epilepsia. En 2011, a propósito de la nueva clasificación, se describen algunos aspectos a tener en cuenta en el momento del tallado de la pieza y se concretan

los marcadores inmunohistoquímicos más relevantes en la interpretación de las displasias corticales<sup>8</sup>. En 2016 desde la ILAE se desarrolla un protocolo de actuación consensuado internacionalmente para el manejo de las piezas procedente de la cirugía de la epilepsia<sup>9</sup>, guía que se desarrolla más adelante

En el presente capítulo se describe el protocolo de actuación consensuado internacionalmente para el manejo de las piezas quirúrgica de la epilepsia refractoria, la clasificación histológica de las displasia corticales, los anticuerpos de inmunohistoquímica necesarios para su valoración y finalmente se describe un glosario de términos.

**Guía para el manejo de las piezas quirúrgicas y diagnóstico histopatológico de las malformaciones del desarrollo cortical con especial énfasis en las DCF ( Fig 1)**



**Fig 1: Protocolo de Actuación en Cirugía de la Epilepsia**

**II. MANEJO DE LA PIEZA QUIRÚRGICA**

Para un adecuado manejo de la pieza quirúrgica es fundamental una buena comunicación entre el patólogo, radiólogo, neurocirujano y neurofisiólogo , que permita conocer los datos clínicos, los hallazgos de imagen, y el tipo de intervención a realizar previo al envío de la pieza quirúrgica.

Se describen a continuación los distintos pasos que son necesarios llevar a cabo de acuerdo al procedimiento operativo estandarizado elaborado por el grupo de trabajo de la ILAE <sup>9,10</sup>

1. Previamente a la valoración macroscópica es imprescindible tener acceso a la información clínica (vídeo electroencefalografía) y sobre todo a los hallazgos de imagen: RM, RM3Teslas, PET-FDG)
2. Sería deseable que la pieza quirúrgica llegue al laboratorio de Anatomía Patológica marcada con grapas o con tinta china para indicar el eje antero-posterior, así como cualquier lesión que se haya identificado con la RM, y si es posible el foco epileptógeno, determinado por los hallazgos de electroencefalografía prequirúrgica o intraoperatoria.
3. La pieza debe valorarse macroscópicamente atendiendo a:
  - A. La forma de los giros, profundidad y ampliación de los surcos:
    - Giros aumentados de tamaño, aspecto tumoral ( Esclerosis tuberosa)
    - Múltiples giros pequeños y poco profundos ( Polimicrogiria )
    - Giros anómalos: ( Hemimegalencefalia)
  - B. La superficie de corte:
    - Pérdida de límites netos entre la sustancia gris y la sustancia blanca,
    - Zonas de polimicrogiria, de giros anchos, de imágenes de túber
    - Nódulos de sustancia gris en el seno de la sustancia blanca
4. Se realizarán en fresco secciones de 0,5 cm de grosor en un plano coronal a lo largo del eje antero-posterior, procurando que los cortes sean perpendiculares a los surcos.
 

Se tomará una muestra de cada dos secciones para estudio histopatológico, en el caso de que no se observen alteraciones. Se incluirán siempre aquellas áreas que presenten alteraciones (referidas anteriormente), fijándose posteriormente en formol tamponado al 10% para estudio histopatológico.

Si se requiere material congelado para investigación, se tomará, previo a su fijación en formol, de las zonas de vecindad a la lesión y se congelará a -80°C para banco de tejidos y/o proyectos de investigación.

Si no se requiere tejido para congelar es recomendable, según nuestra experiencia, dejar fijar la pieza durante 2-3 días y posteriormente realizar los cortes de acuerdo a lo indicado anteriormente. Al estar fijada la pieza la superficie de corte es lisa, evitando que se haga cóncava y por tanto exija desgastar más el bloque de parafina
5. Asignar a cada bloque números correlativos o letras, identificando aquellos cortes que correspondan al foco epileptógeno y a las zonas de lesión identificadas macroscópicamente.
6. Si fuera posible tener los bordes de resección, se marcarán y se incluirán de forma separada para estudio histológico asignándoles un número o letra especificando su localización
7. El procesamiento del tejido, el grosor de los cortes en el microtomo ( 4µ ) y el procedimiento para la elaboración de las técnicas de inmunohistoquímica quedan referidos en el protocolo mencionado <sup>9</sup>

### III. VALORACIÓN HISTOPATOLÓGICA

La clasificación histológica de las DCF se realiza de acuerdo a los criterios establecidos por el grupo de trabajo de ILAE en 2011 <sup>4</sup>. Tabla 1.

Esta clasificación divide las displasia corticales aisladas en tipo I subtipos a, b y c y tipo II subtipos a y b en función de las alteraciones arquitecturales observadas en la corteza: alteración de la laminación radial (Tipo Ia): disposición microcolumnar ( más de 8 neuronas alineadas en dirección vertical, en la capa 3 ), imagen similar a las observadas en el cerebro en desarrollo; alteración de la laminación tangencial ( Tipo Ib): pérdida de la laminación cortical, pérdida de los límites entre las capas de la corteza, fundamentalmente referidas a las capas 2, 3, 4 y 5, pérdida de densidad neuronal en algunas de las capas ( 2 y 4) y pérdida de límites netos entre sustancia gris y blanca .

Al conjunto de alteraciones arquitecturales se añaden posibles alteraciones citológicas como citomegalia neuronal, neuronas inmaduras y heterotopia neuronal en sustancia blanca. La presencia conjunta de altera-

ciones laminares y tangenciales corresponde al tipo Ic. Si a las alteraciones arquitecturales tangenciales con marcada pérdida de la laminación, se une la presencia de neuronas dismórficas, se trataría de un tipo IIa y si además se observan células "balloon" que suelen encontrarse en los límites entre sustancia gris-blanca, sería una tipo IIb. Otros hallazgos son la gliosis reactiva en la corteza, la disminución en la densidad de la mielina en la sustancia blanca (SB) y la heterotopia neuronal.

A la hora de valorar la densidad neuronal de las diferentes capas de la corteza hay que tener en cuenta que los lóbulos del cerebro ( frontal , parietal, temporal y occipital ) muestran una densidad neuronal diferente en las distintas capas.

Otras malformaciones del desarrollo cortical como la hemimegalencefalia y la esclerosis tuberosa pueden mostrar alteraciones similares a las DCF tipo IIa y IIb

La clasificación contempla también la posibilidad de DCF asociadas a otras alteraciones (tipo III), que subdivide según la patología asociada en tipo IIIa ( esclerosis del hipocampo), tipo IIIb (tumor glial y glioneuronal ) tipo IIIc, (malformaciones vasculares ) y tipo IIId (lesiones adquiridas isquémicas, encefalitis, y traumatismos )

**Tabla 1: Clasificación DCF ILAE 2011**

DCF tipo I aislada	DCF Tipo Ia MRA (microlumnas)	DCF Tipo Ib LCA Tangencial	DCF Tipo Ic LCA radial y tangencial	
DCF tipo II Aislada	DCF Tipo IIa Alteración laminación cortical Neuronas dismórficas		DCF tipo IIb Alteración laminación cortical Neuronas dismórficas y células Balloon	
DCF tipo III Asociada a Lesión Principal	DCF tipo IIIa L. C. A.+ En L. Temporal + EH	DCF IIIb L.C.A.+ Tumor glial o Glioneuronal	DCF IIIc LCA adyacente a Malformación vascular	DCF IIId LCA adyacente a lesiones adquiridas perinatales: Trauma Isquemia, Encefalitis

DCF: Displasia cortical Focal; MRA: Migración radial anómala; LCA: Laminación cortical anómala

#### IV. TINCIONES HISTOQUÍMICAS Y ANTICUERPOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE UTILIDAD DIAGNÓSTICA

Para una mejor valoración de los hallazgos morfológicos conviene utilizar técnicas histoquímicas como el Violeta de Cresilo para visualizar mejor los grumos de Nissl en las neuronas dismórficas y la tinción Luxol-fast-blue para valorar la densidad de la mielina<sup>8</sup>. Se aconseja utilizar un panel de anticuerpos que permitirá definir mejor las alteraciones arquitecturales y los distintos tipos celulares observados.

El grupo de trabajo de la ILAE<sup>9</sup> aconseja el siguiente panel de anticuerpos para las malformaciones del desarrollo cortical Tabla 2

**Tabla 2**

Anticuerpo	localización	Tipo celular
NeuN clon A60	Núcleo y citoplasma	Neuronas maduras
Map2 clon HM2	Soma neuronal	Neuronas en SB
PGFA	Glia	Astroцитos ( gliosis)
Neurofilamentos No- fosforilados clon SM132	Soma neuronal	Neuronas dismórficas
Cd34 clon QBenD10	membrana	Células Balloon

La utilización de Neurofilamentos fosforilados permite diferenciar las neuronas dismórficas y las que tienen citomegalia, de las neuronas normales, dado que este anticuerpo muestra positividad en el soma neuronal únicamente en las neuronas dismórficas y con citomegalia.<sup>11</sup> Por otra parte, las neuronas inmaduras, a diferencia de las maduras, no muestran positividad para los neurofilamentos no fosforilados<sup>8</sup> El anticuerpo CD34<sup>12</sup> muestra positividad de membrana en las células "Balloon" permitiendo su diferenciación de astrocitos hipertróficos. El marcador de diferenciación glial como la PAGF (Proteína ácida glio fibrilar) permite valorar la gliosis reactiva que se observa a nivel de la corteza, acompañando a las DCF.

La sinaptofisina, si bien no está incluida dentro del protocolo, algunos autores<sup>10</sup> consideran relevante su utilización, no solo como marcador neuronal sino por su característica distribución en las neuronas observadas en la SB, en la DCF, que muestran positividad en la membrana del soma neuronal y en los axones que discurren hacia la corteza perpendiculares a la misma, a diferencia de las neuronas del cerebro maduro cuyos axones discurren paralelos a la corteza y muestran tinción somática

## V. GLOSARIO DE TÉRMINOS

- Microcolumnas: Disposición vertical a nivel de la capa 3 de la corteza de neuronas de pequeño tamaño (neuronas inmaduras) en número igual o mayor de 8<sup>4</sup>
- Dislaminación: Alteración de la arquitectura cortical radial o tangencialmente<sup>4,8</sup>
- Citomegalia neuronal ( hipertrofia neuronal): Neuronas grandes del tipo de las neuronas piramidales de la capa 5, situadas en las capas 1, 2,3,o 4<sup>4</sup>
- Neuronas inmaduras: se desarrollan a partir del neuroblasto, tienen pequeño tamaño (<250mm<sup>2</sup>) y se encuentran en gran número en las microcolumnas orientadas verticalmente de la DCF tipo la<sup>4,8</sup>
- Heterotopia Neuronal: es un aumento en la densidad de las neuronas/mm<sup>2</sup> en SB . No hay un valor consensuado acerca de qué número de neuronas hay que contar para considerarlo aumentado. En condiciones normales se pueden encontrar neuronas en la SB en una cantidad aproximada de menos 10/mm<sup>2</sup> en localización extratemporal y más de 10/mm<sup>2</sup> en el lóbulo temporal<sup>13</sup>. Blümcke et al<sup>10</sup> consideran valores patológicos más de 20 neuronas / mm<sup>2</sup> ( cuatro campos de un objetivo de 40x ) y aconsejan su valoración en zonas distantes a la corteza a más de 500µm<sup>8</sup>
- Neuronas Dismórficas: son neuronas de mayor tamaño y con núcleo más grande, que el de las neuronas piramidales de la capa 3, a veces angulado e hiper cromático y con la sustancia de Nissl formando agregados hacia la membrana celular, se presentan en la corteza con pérdida de la orientación<sup>4,8</sup>
- Neuronas displásicas: son neuronas semejantes a las observadas en los tumores glioneuronales como el ganglioglioma y el Tumor neuroepitelial disembrionárico<sup>4,8</sup>
- Células Balloon: Células grandes con citoplasma amplio eosinófilo de aspecto vidrioso sin sustancia de Nissl, con el núcleo en uno de los polos de la célula y a veces multinucleación<sup>4,8</sup>, que suelen encontrarse en la sustancia blanca en la proximidad a la corteza

## Bibliografía

1. Barkovich AJ, Kuzniecky RI, Jackson GD, Guerrini R, Dobyns WB. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development. *Neurology*. 2005 ;65:1873-87
2. Kakita A: Surgical pathologic features of cerebral cortical lesions taken from 600 patients with intractable epilepsy. *Brain Dev* 2013; 35:793-801.
3. Lerner JT, Salamon N, Hauptman JS, et al: Assessment and surgical outcomes for mild type I and severe type II cortical dysplasia: a critical review and the UCLA experience. *Epilepsia*. 2009; 50:1310-35;

4. Blümcke I, Thom M, Aronica E, et al: The clinicopathologic spectrum of focal cortical dysplasias: a consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission *Epilepsia* 2011;52:158-174..
5. Mischel PS, Nguyen LP, Vinters HV. Cerebral cortical dysplasia associated with pediatric epilepsy. Review of neuropathologic features and proposal for a grading system. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1995;54:137-53.
6. Tassi L, Colombo N, Garbelli R et al . Focal cortical dysplasia: neuropathological subtypes, EEG, neuroimaging and surgical outcome. *Brain.* 2002;125:1719-32
7. Palmini A, Najm I, Avanzini G, et al. Terminology and classification of the cortical dysplasias. *Neurology.* 2004; 23;62(6 Suppl 3):S2-8. Tassi
8. Blümcke I, Mühlebner A: Neuropathological work-up of focal cortical dysplasias using the new ILAE consensus classification system - practical guideline article invited by the Euro-CNS Research Committee. *Clin Neuropathol* 2011; 30:164-177.
9. Blümcke I Aronica E, Miyata H et al : International recommendation for a comprehensive neuropathologic workup of epilepsy surgery brain tissue: A consensus task force report from the ILAE Commission on diagnostic methods. *Epilepsia;* 2016 57(3):348-358
10. Blümcke I, Sarnat HB, Coras R. *Surgical Neuropathology of focal epilepsies: Textbook and atlas.* Ed John Libbey Eurotext, 2015
11. Crino PB, Miyata H, Vinters HV: Neurodevelopmental disorders as a cause of seizures: neuropathologic, genetic, and mechanistic considerations. *BrainPathol* 2002; 12: 212-233
12. Fauser S, Becker A, Schulze-Bonhage A, et al CD34-immunoreactive balloon cells in cortical malformations. *Acta Neuropathol* 2004; 108:272-278.
13. Hildebrandt M, Pieper T, Winkler P et al. Neuropathological spectrum of cortical dysplasia in children with severe focal epilepsies. 2005; 110(1):1-11

# Examen histopatológico de la placenta

Carlota Rovira<sup>1</sup>, Silvia Planas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hospital Sant Joan de Deu. Esplugues, Barcelona

<sup>2</sup> Severn Pathology-North Bristol NHS Trust. Bristol Royal Infirmary, Essential Laboratory Service (ESL)

## I. INTRODUCCIÓN

El examen histopatológico de la placenta puede ayudar a explicar la causa de una pérdida gestacional o de un pobre resultado perinatal. Además, el examen de la placenta puede proporcionar información relevante para el posible tratamiento neonatal inmediato o para el manejo de gestaciones futuras.

En países anglosajones el examen de la placenta suele realizarse mayoritariamente por patólogos especializados en patología perinatal, especialmente en casos de pérdida fetal o gestaciones monocoriales. En países donde la subespecialidad de patología pediátrica y perinatal no existe, la placenta es examinada por patólogos generales que pueden tener un rango de conocimiento muy variable sobre patología perinatal.

Es recomendable que los patólogos que informan histopatología placentaria de forma rutinaria sigan guías actualizadas sobre terminología y clasificación de patologías placentarias. Especialmente, es aconsejable seguir las publicaciones periódicas realizadas por Placental Workshop Group Consensus Statement. La más reciente: Khong TY et al. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. Arch Pathol Lab Med. 2016 Jul;140(7):698-713.

El examen macroscópico adecuado de la placenta debería realizarse por el patólogo o por un técnico especialmente formado para realizar esta tarea, ya que un examen macroscópico adecuado es esencial para un muestreo histológico suficiente y una correlación macroscópica-histológica correcta. Algunas patologías placentarias no pueden diagnosticarse sin correlación macroscópica (ej.: depósito masivo de fibrina). Otras lesiones placentarias pueden ser macroscópicamente muy sutiles, siendo posible que un examinador poco experimentado no sepa reconocerlas y, subsiguientemente, no tome muestras histológicas de estas lesiones.

Una información clínica adecuada es imprescindible para la interpretación correcta de los hallazgos histopatológicos. Es recomendable no utilizar hojas de petición genérica de "examen histopatológico", y utilizar hojas de petición específicas para examen placentario. De esta forma, se debería asegurar que se recibe la mínima información necesaria para el examen de la placenta. Esta información clínica debería incluir:

- Edad Gestacional (EG): Expresado en semanas de gestación. No es necesario incluir la FUR (Fecha de Última Regla), ya que no es competencia del patólogo calcular la edad gestacional.
- Sexo.
- Peso al nacer (gramos).
- Test de Apgar.
- Fórmula obstétrica materna (TPAL).
- Indicación para examen histopatológico placentario.

Es aconsejable que exista un acuerdo entre el servicio de patología y los servicios de obstetricia y neonatología locales en cada centro para establecer la forma en que se proveerá el examen histopatológico

de la placenta, consensuando hojas de petición, indicaciones para examen, número estimado de placentas para examen al año, etc. De esta forma, el servicio de patología podrá planear la infraestructura y soporte técnico necesarios para poder proveer este servicio de forma eficiente.

El objetivo de este documento es proporcionar recomendaciones para el estudio histopatológico protocolizado de la placenta.

## II. PLACENTA ÚNICA

### A. RECOMENDACIONES PARA EXAMEN MACROSCÓPICO:

El examen puede realizarse en fresco o post-fijación en formol, teniendo en cuenta que las características macroscópicas de las lesiones pueden variar post-fijación. La decisión de enviar la placenta para examen en fresco o fijada en formol depende de la infraestructura de cada laboratorio de patología (capacidad de almacenamiento, espacio en neveras, etc.). Si se decide enviar la placenta sin fijar, es importante refrigerar el espécimen lo antes posible. La placenta puede permanecer refrigerada hasta aproximadamente una semana en buen estado.

La placenta deberá lavarse eliminando los posibles coágulos acompañantes. Se colocará la placenta con las membranas en posición anatómica y la cara materna apoyada en la superficie de trabajo. Deberán evaluarse los distintos compartimentos placentarios: **membranas periféricas y superficie fetal, cordón umbilical y superficie materna. Una vez el disco placentario se encuentre desprovisto de membranas y cordón, se pesará y medirá el mismo.**

#### 1. Membranas periféricas y superficie fetal:

- Integridad de las membranas: describir si son completas o incompletas.
- Inserción de las membranas periféricas:
  - Marginal: Inserción en el borde placentario.
  - Circummarginada: Las membranas se insertan hacia el interior del disco y alejadas del margen placentario. A nivel de la inserción las membranas parecen planas.
  - Circumvalada: Las membranas se insertan hacia el interior del disco y alejadas del margen placentario. A nivel de la inserción las membranas parecen elevadas y muchas veces están asociadas a hemorragia organizada o coágulos.

En el caso de membranas circumvaladas o circummarginadas, se especificará el porcentaje del perímetro del disco que muestra dicha inserción.
- Coloración: grisácea, blanquecina, amarillenta, verdosa, o marronácea.
- Valoración de los vasos de la superficie fetal: evaluar si existen trombos, etc.
- Otros: presencia de amnion nodosum, bandas amnióticas, etc.

#### 2. Cordón umbilical:

- Inserción: Se medirá la distancia entre la zona de inserción del cordón y el margen placentario más próximo. La inserción puede ser:
  - Central
  - Excéntrica
  - Periférica (a menos de 3 cm del margen placentario)
  - Marginal (en el mismo margen del disco placentario)
  - Velamentosa: Deberá medirse la distancia entre el margen placentario y la inserción del cordón en las membranas. Se documentará la existencia de lesiones en los vasos intramembranosos.
- Longitud del cordón.
- Diámetro: Se considera que un cordón de menos de 8 mm de diámetro en una gestación a término es un cordón fino.



- Torsiones: Se refiere al número de torsiones diagonales de cordón por 10 cm de longitud. El número normal de torsiones es de 2 / 10 cm. Un cordón con 5 torsiones o más / 10 cm se considera significativamente hipertorsionado.
- Numero de vasos.
- Presencia de lesiones focales: Nudos verdaderos, constricciones, hemorragias, trombosis, etc.

### 3. Superficie materna:

- Se deberá valorar la integridad de la superficie materna indicando si existe fragmentación o pérdida de cotiledones.
- Presencia de hemorragia (hematoma) retroplacentario: Indicar las medidas o la proporción de superficie afectada y la localización (central o marginal).

### 4. Disco placentario:

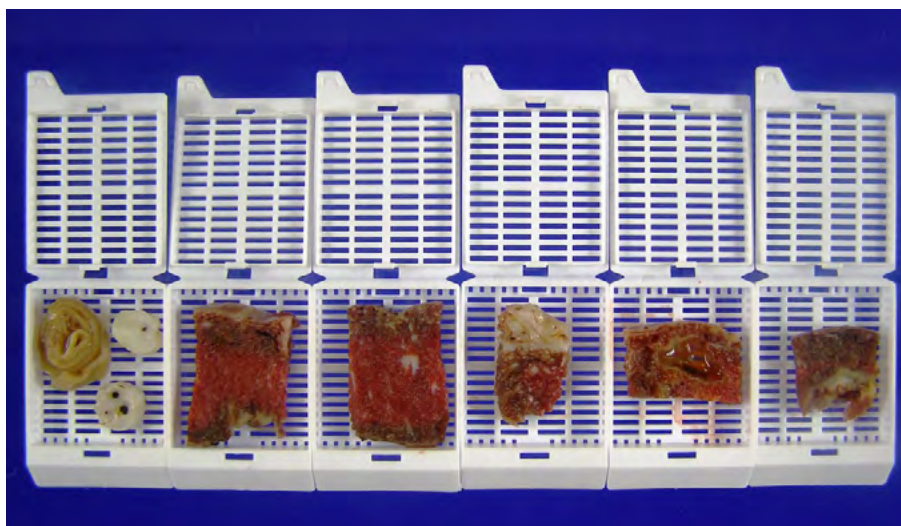
- **Peso del disco placentario:** El peso debe de contabilizarse con la placenta desprovista de membranas y cordón umbilical.
- **Morfología:** Puede ser discoide, irregular, succenturiada (con lóbulos accesorios), bilobada, etc.
- **Dimensiones:** Se medirán tres dimensiones del disco (dos dimensiones máximas en dos planos perpendiculares y el grosor medio del disco).
- **Aspecto parénquima villositario:**

Se realizarán cortes paralelos completos del disco a intervalos de aproximadamente 1 cm. Se describirá:

- Color.
- Presencia de lesiones focales (infartos, hematomas, etc.). Deberá estimarse las medidas de lesiones únicas o la proporción de parénquima afectado en lesiones múltiples. También deberá indicarse si las lesiones parecen recientes o antiguas.

### B. RECOMENDACIONES PARA MUESTREO HISTOLÓGICO:

Se recomiendan 5 bloques para un muestreo adecuado. Se incluirá una muestra de membranas periféricas, enrollando las membranas desde el punto de rotura hasta alcanzar el borde placentario incluyendo una pequeña porción del parénquima marginal. Se tomarán un mínimo de 2 secciones de cordón umbilical, evitando incluir los extremos del cordón umbilical. Las secciones de cordón pueden incluirse en el primer bloque con las membranas, o en un segundo bloque. Se incluirán un mínimo de 3 secciones completas del parénquima villositario, incluyendo la superficie fetal y la superficie materna. Las secciones se tomarán de las partes centrales del disco, si es posible cercanas a la inserción del cordón. Si se observan lesiones macroscópicas se cogerán muestras adicionales.



### C. EXAMEN HISTOLÓGICO

Se deberán examinar los distintos compartimentos placentarios.

- Membranas: Valorar presencia de inflamación, depósito de pigmentos (meconio, hemosiderina), etc.
- Cordón: Determinar el número de vasos. Valorar la presencia de inflamación, etc.
- Vasos coriales: Valorar la presencia de inflamación, trombosis, etc.
- Parénquima villositario: Valorar si la maduración villositaria es adecuada para la edad gestacional. Describir la presencia de lesiones (infartos, etc.).
- Placa basal: Valorar la presencia de vasculopatía decidual, etc.

En la mayoría de casos, la tinción con H&E es suficiente para realizar un diagnóstico.

Casos específicos pueden requerir estudios adicionales con técnicas histoquímicas (PAS-D para estructuras fúngicas, Perls para hemosiderina, etc.) o de inmunohistoquímica (Citomegalovirus, Parvovirus, marcadores para inflamación CD68, CD3).

### D. RECOMENDACIONES PARA INFORME HISTOPATOLÓGICO

Debe de incluir resumen de datos clínicos, descripción macroscópica, descripción microscópica y diagnóstico final. En aconsejable incluir un comentario sobre la correlación clínico-patológica.

## III. PLACENTA GEMELAR

La hoja de petición para examen de placentas de gestaciones múltiples debería especificar cómo se han identificado los cordones placentarios para cada gemelo. Por ejemplo:

“Gemelo 1: 1 clip umbilical. Gemelo 2: 2 clips umbilicales”.

Si los cordones no están identificados con clips, o no se ha especificado en la hoja de petición esta información, los cordones se denominarán arbitrariamente como “Gemelo A”, “Gemelo B”.

El primer objetivo del examen de placentas de gestaciones múltiple es establecer o confirmar el tipo de corionicidad. Para el examen de placentas múltiples superiores (triples, cuádruples, etc.) el examen se realizará de acuerdo con el tipo de corionicidad.

### A. PROCEDIMIENTO EXAMEN MACROSCÓPICO

#### 1. Placenta general bicorial biamniótica (bcba)

Las placentas bicoriales pueden encontrarse como discos placentarios separados o fusionados. En el caso de discos separados las placentas se examinarán separadamente. En el caso de discos fusionados, se examinará en primer lugar la membrana interfetal (o membrana divisoria). Esta membrana es más gruesa y está más firmemente adherida a la superficie fetal en comparación a la membrana interfetal de placentas monocoriales. Se procederá a tomar una muestra de la membrana interfetal siguiendo la misma técnica de “rollo” explicada anteriormente para las membranas periféricas. A continuación se examinará la superficie fetal. En el caso de placentas gemelares BCBA los vasos coriales se limitan al territorio de cada disco placentario, sin cruzar o comunicarse con el otro disco. Posteriormente se separarán los discos fusionados y se examinará cada placenta de forma independiente.

#### 2. Placenta gemelar monocorial

Las placentas monocoriales se caracterizan por la posibilidad de presentar un tipo de patología y complicaciones específicas. Las placentas monocoriales se examinarán como una entidad única respecto al peso y medidas del disco placentario. La membrana interfetal suele ser muy fina y está poco adherida a la superficie fetal.

Se procederá al examen de cada **cordón umbilical**.

A continuación, se examinará la **superficie fetal**, incluyendo:

- Distancia intercordonal: Distancia entre los dos cordones umbilicales.
- Patrón vascular coriónico: se definen 3 tipos:
  - >Disperso: los vasos coriónicos se ramifican disminuyendo progresivamente de calibre hacia la periferia del disco placentario.
  - >Magistral: los vasos coriónicos se ramifican hacia la periferia manteniendo un calibre similar en todo su trayecto.
  - >Mixto: combinación entre los dos patrones descritos anteriormente.
- Distribución territorios vasculares:
 

Es la expresión a modo de porcentaje de la distribución de los territorios vasculares observado en superficie fetal. Como ejemplo, "Gemelo A: Gemelo B = 60: 40" → significa que los vasos coriales del gemelo A se distribuyen ocupando aproximadamente un 60% de la superficie fetal.

Una diferencia de más del 25% entre distribución de territorios vasculares define la categoría de "Distribución vascular marcadamente desigual", que suele verse más frecuentemente en casos de síndrome de transfusión feto-fetal.
- Anastomosis vasculares visibles: se describirán el número y tipo de anastomosis de vasos coriales en superficie, recordando que las arterias coriales siempre cruzan por encima de las venas coriales. Las anastomosis coriales pueden ser:
  - AA: anastomosis arterio-arterial
  - AV: anastomosis arterio-venosa
  - VV: anastomosis veno-venosa.

La identificación de anastomosis puede facilitarse realizando estudios de inyección vascular de colorantes. Para ello es necesario recibir la placenta sin fijación y que el disco placentario no esté fragmentado. Se procederá a lavar con agua la placenta, masajeando con cuidado la superficie fetal para retirar la sangre acumulada en el interior de los vasos coriales. A continuación se seccionará cada cordón a una distancia de aproximadamente 4 cm desde la inserción placentaria. Para cada cordón, se canalizarán los vasos, inyectando el mismo colorante para ambas arterias y un colorante distinto para la vena. Al finalizar la inyección, se utilizará un clamp para ocluir la luz de los vasos umbilicales, impidiendo que rezume el colorante inyectado. Seguidamente, la placenta se fijará en formol un mínimo de 24 horas. Se deberá fotografiar la superficie fetal con estudios de inyección previamente a la disección del disco.
- En casos de coagulación láser previo para tratamiento del síndrome de transfusión feto fetal (STFF), se debe describir la presencia de aplicación de láser, que suele observarse como lesiones blanquecinas en superficie fetal.
 

El **disco placentario** de placentas monocoriales deberá seccionarse con cortes que incluyan los dos territorios vasculares de aproximadamente 1 cm de grosor. Es necesario describir si hay diferencias entre los dos territorios vasculares, en cuanto a congestión, etc.

## B. EXAMEN HISTOLÓGICO:

Para el examen histológico se tomarán 3 secciones de parénquima de cada territorio vascular.

### Bibliografía

1. Khong TY et al. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. Arch Pathol Lab Med. 2016 Jul;140(7):698-713.
2. Tissue pathway for histopathological examination of the placenta. The Royal College of Pathologists. September 2011. Dr. Phil Cox, Dr. Clair Evans.

3. Baergen RN (2011) Manual of pathology of the human placenta, 2nd edn. Springer, New York.
4. Atlas of non tumour pathology, Placental pathology, first series, fascicle 3. Kraus FT et Al, AFIP 2014.
5. De Paepe ME. What and Why the Pathologist Should Know About Twin-to-Twin Transfusion Syndrome. *Pediatr Dev Pathol.* 2013;16:237-251.
6. Roberts DJ. Placental Pathology, a Survival Guide. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:641-651.

**APÉNDICE A****PLANTILLA RECOMENDADA PARA PETICIÓN DE EXAMEN HISTOPATOLÓGICO PLACENTARIO:**

PETICIÓN PARA EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE PLACENTA	
DATOS DEL PACIENTE (o etiqueta con los datos del paciente)	INFORMACIÓN CLÍNICA
<b>Apellidos:</b> <b>Nombre:</b> <b>Fecha de Nacimiento:</b> <b>Hospital:</b> <b>Médico:</b>	<b>Fecha de nacimiento /parto:</b> <b>Edad gestacional (semanas):</b> <b>Sexo:</b> <b>Peso al nacer (g):</b> <b>Test de Apgar:</b> <b>Fórmula obstétrica (TPAL):</b>
<b>INDICACIÓN PARA EXAMEN HISTOPATOLÓGICO (marcar todas las indicaciones relevantes):</b>	
<input type="checkbox"/>	Pérdida gestacional:
<input type="checkbox"/>	Aborto espontáneo (pérdida espontánea <22 semanas de gestación)
<input type="checkbox"/>	Aborto diferido (gestación no viable <22 semanas de gestación, subclínica)
<input type="checkbox"/>	Éxitus intrauterino (gestación no viable ≥22 semanas de gestación)
<input type="checkbox"/>	ILE (Interrupción Legal Embarazo) - Indicación:
<input type="checkbox"/>	Muerte intraparto / Muerte neonatal temprana
<input type="checkbox"/>	Muerte intraparto – adjuntar resumen historia clínica con esta petición
<input type="checkbox"/>	Muerte neonatal temprana – adjuntar resumen historia clínica neonatal con esta petición
*En caso de autopsias fetales / neonatales, la placenta se debe enviar conjuntamente con el feto o neonato para examen conjunto	
<input type="checkbox"/>	Distress Fetal Severo – Test de Apgar: ..... 1 <sup>er</sup> min, ..... 5 <sup>o</sup> min, ..... 10 <sup>o</sup> min
<input type="checkbox"/>	Ingreso en UCI neonatal – Indicación:
<input type="checkbox"/>	Prematuridad
<input type="checkbox"/>	RCIU (Retraso Crecimiento Intrauterino)
<input type="checkbox"/>	Hidrops fetal
<input type="checkbox"/>	Corioamnionitis clínica
<input type="checkbox"/>	DPPN (Desprendimiento Prematuro Placenta Normoinserta) – Abruptio placentae
<input type="checkbox"/>	Acretismo placentario
<input type="checkbox"/>	Pre-eclampsia
<input type="checkbox"/>	<b>Gestación múltiple:</b> Indicar CORIONICIDAD: Indicar IDENTIFICACIÓN DE CORDONES: <b>Gemelo 1:</b> Nº clips cordón:..... / <b>Gemelo 2:</b> Nº clips cordón:.....
<input type="checkbox"/>	Cualquier otra indicación / información relevante (especificar):

**PLANTILLA RECOMENDADA PARA EXAMEN MACROSCÓPICO PLACENTA ÚNICA:**

<b>EXAMEN MACROSCÓPICO PLACENTA ÚNICA</b>	
Placenta se recibe:	<input type="checkbox"/> Sin fijar <input type="checkbox"/> Fijada en formol
<b>Peso disco placentario (g):</b>	Percentil para EG:
<b>Ratio peso feto-placentario:</b>	Percentil para EG:
Morfología de la placenta:	
Medidas placenta (cm)	
<b>Membranas periféricas:</b>	
<input type="checkbox"/>	Integridad:
<input type="checkbox"/>	Inserción:
<input type="checkbox"/>	Color:
<b>Cordón umbilical</b>	
<input type="checkbox"/>	Inserción:
<input type="checkbox"/>	Medidas:
<input type="checkbox"/>	Torsiones (Nº/10cm):
<input type="checkbox"/>	Número de vasos:
<input type="checkbox"/>	Nudos verdaderos:
<input type="checkbox"/>	Lesiones focales:
<b>Superficie fetal:</b>	
<input type="checkbox"/>	Color:
<input type="checkbox"/>	Lesiones en vasos coriales:
<b>Superficie materna:</b>	
<input type="checkbox"/>	Integridad:
<input type="checkbox"/>	Hematoma:
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí, de localización ( <i>central / marginal</i> ):
<input type="checkbox"/>	Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<b>Superficie de corte / Parénquima villositario:</b>	
<input type="checkbox"/>	Color:
<input type="checkbox"/>	Lesiones:
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí:
<input type="checkbox"/>	Infarto(s):
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Único, de localización ( <i>central / marginal</i> ):
<input type="checkbox"/>	Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<input type="checkbox"/>	Múltiples, afectando aproximadamente .....% de masa placentaria, Predominantemente ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<input type="checkbox"/>	Trombos intervillositarios (hematomas intraplacentarios):
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Único, Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<input type="checkbox"/>	Múltiples, afectando aproximadamente .....% de masa placentaria, Predominantemente ( <i>recientes / antiguos</i> ):
<input type="checkbox"/>	Depósito macroscópico incrementado de fibrina:
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí

## PLANTILLA RECOMENDADA PARA EXAMEN MACROSCÓPICO PLACENTA BCBA:

EXAMEN MACROSCÓPICO PLACENTA GEMELAR BICORIAL BIAMNIÓTICA (BCBA)			
Placentas se reciben:	<input type="checkbox"/>	Sin fijar	<input type="checkbox"/>
			Fijada en formol
Placentas BCCA	<input type="checkbox"/>	No fusionadas	<input type="checkbox"/>
			Fusionadas
			Parcialmente fusionadas
Aspecto de membrana interfetal:			
PLACENTA GEMELO 1 /A			
Peso disco placentario (g):		Percentil para EG:	
Ratio peso feto-placentario:		Percentil para EG:	
Morfología de la placenta:			
Medidas placenta (cm)			
<b>Membranas periféricas:</b>			
Integridad:			
Inserción:			
Color:			
<b>Cordón umbilical (Nº clips umbilicales: ):</b>			
Inserción:			
Medidas:			
Torsiones (Nº/10cm):			
Número de vasos:			
Nudos verdaderos:			
Lesiones focales:			
<b>Superficie fetal:</b>			
Color:			
Lesiones en vasos coriales:			
<b>Superficie materna:</b>			
Integridad:			
Hematoma:			
<input type="checkbox"/>	No		
<input type="checkbox"/>	Sí, de localización ( <i>central / marginal</i> ):		
	Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):		
<b>Superficie de corte / Parénquima villositario:</b>			
Color:			
Lesiones:			
<input type="checkbox"/>	No		
<input type="checkbox"/>	Sí:		
<input type="checkbox"/>	Infarto(s):		
<input type="checkbox"/>	No		
<input type="checkbox"/>	Único, de localización ( <i>central / marginal</i> ):		
	Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):		
<input type="checkbox"/>	Múltiples, afectando aproximadamente .....% de masa placentaria, Predominantemente ( <i>reciente / antiguo</i> ):		
<input type="checkbox"/>	Trombos intervillositarios (hematomas intraplacentarios):		
<input type="checkbox"/>	No		
<input type="checkbox"/>	Único, Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):		
<input type="checkbox"/>	Múltiples, afectando aproximadamente .....% de masa placentaria, Predominantemente ( <i>recientes / antiguos</i> ):		
<input type="checkbox"/>	Depósito macroscópico incrementado de fibrina:		

<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí
<b>Placenta Gemelo 2 / B</b>	
Peso disco placentario (g):	Percentil para EG:
Ratio peso feto-placentario:	Percentil para EG:
Morfología de la placenta:	
Medidas placenta (cm)	
<b>Membranas periféricas:</b>	
Integridad:	
Inserción:	
Color:	
<b>Cordón umbilical (Nº clips umbilicales: ):</b>	
Inserción:	
Medidas:	
Torsiones (Nº/10cm):	
Número de vasos:	
Nudos verdaderos:	
Lesiones focales:	
<b>Superficie fetal:</b>	
Color:	
Lesiones en vasos coriales:	
<b>Superficie materna:</b>	
Integridad:	
Hematoma:	
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí, de localización ( <i>central / marginal</i> ):
	Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<b>Superficie de corte / Parénquima villositario:</b>	
Color:	
Lesiones:	
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí:
<input type="checkbox"/>	Infarto(s):
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Único, de localización ( <i>central / marginal</i> ):
	Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<input type="checkbox"/>	Múltiples, afectando aproximadamente .....% de masa placentaria, Predominantemente ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<input type="checkbox"/>	Trombos intervillósarios (hematomas intraplacentarios):
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Único, Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<input type="checkbox"/>	Múltiples, afectando aproximadamente .....% de masa placentaria, Predominantemente ( <i>recientes / antiguos</i> ):
<input type="checkbox"/>	Depósito macroscópico incrementado de fibrina:
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí



## PLANTILLA RECOMENDADA PARA EXAMEN MACROSCÓPICO PLACENTA MC:

EXAMEN MACROSCÓPICO PLACENTA GEMELAR MONOCORIAL	
Placenta se recibe:	Sin fijar
Estudios de inyección	Sí
<b>Peso disco placentario (g):</b>	Percentil para EG:
Morfología de la placenta:	
Medidas placenta (cm)	
Aspecto membrana interfetal:	
Aspecto membranas periféricas:	
<b>Gemelo 1 / A - Cordón umbilical (Nº clips umbilicales: ):</b>	
Inserción:	
Medidas:	
Torsiones (Nº/10cm):	
Número de vasos:	
Nudos verdaderos:	
Lesiones focales:	
<b>Gemelo 2 / B - Cordón umbilical (Nº clips umbilicales: ):</b>	
Inserción:	
Medidas:	
Torsiones (Nº/10cm):	
Número de vasos:	
Nudos verdaderos:	
Lesiones focales:	
<b>Superficie fetal</b>	
Color:	
Distancia intercordonal (cm)	
Patrón vascular coriónico:	
<input type="checkbox"/>	Disperso (ramificante)
<input type="checkbox"/>	Magistral (no ramificante)
<input type="checkbox"/>	Mixto
<b>Distribución de territorios vasculares: Gemelo 1/A: Gemelo 2/B = ..... :.....</b>	
<b>Anastomosis vasculares visibles:</b>	
<b>Superficie materna:</b>	
Integridad:	
Hematoma:	
<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Sí, de localización ( <i>central / marginal</i> ):
	Medidas: (cm), de aspecto ( <i>reciente / antiguo</i> ):
<b>Superficie de corte / Parénquima villositario:</b>	
<b>Territorio vascular Gemelo 1/A:</b>	
Color:	
Lesiones:	
<b>Territorio vascular Gemelo 2/B:</b>	
Color:	
Lesiones:	

**PLANTILLA RECOMENDADA PARA INFORME HISTOPATOLÓGICO DE PLACENTA:**

INFORME HISTOPATOLÓGICO DE PLACENTA	
DATOS DEL PACIENTE (o etiqueta con los datos del paciente)	INFORMACIÓN CLÍNICA
<b>Apellidos:</b> <b>Nombre:</b> <b>Fecha de Nacimiento:</b> <b>Hospital:</b> <b>Médico:</b>	<b>Fecha de nacimiento /parto:</b> <b>EG - Edad gestacional (semanas):</b> <b>Sexo:</b> <b>Peso al nacer (g):</b> <b>Test de Apgar:</b> <b>Fórmula obstétrica (TPAL):</b>
<b>INDICACIÓN PARA EXAMEN HISTOPATOLÓGICO:</b>	
<p><b>EXAMEN MACROSCÓPICO:</b>                      Placenta se recibe:  <b>Peso disco placentario (g):</b> (..... Percentil según EG).                      Ratio peso fetoplacentario: (..... Percentil según EG).                      Morfología placentaria:                      Medidas disco placentario:  <b>Membranas periféricas</b>                      -Integridad:                      -Inserción:                      -Color:  <b>Cordón umbilical</b>                      -Inserción:                      -Medidas (cm):                      -Torsiones (Nº torsiones / 10 cm):                      -Número de vasos:                      -Lesiones macroscópica:  <b>Superficie fetal</b>                      -Aspecto:  <b>Superficie materna</b>                      -Integridad:                      -Hematoma:  <b>Superficie de corte / Parénquima villositario</b>                      -Color:                      -Lesiones focales:</p> <p>Código de inclusión: A: rollo membranas periféricas; B: cordón umbilical; C-E: parénquima placentario.</p> <p><b>EXAMEN MICROSCÓPICO:</b>  <b>Membranas:</b>  <b>Cordón umbilical:</b>  <b>Vasos coriales:</b>  <b>Parénquima villositario:</b>  <b>Placa basal:</b></p> <p><b>CONCLUSIÓN:</b>  <b>Placenta (EG: ..... semanas de gestación):</b>                      -Peso placentario:                      -Arquitectura villositaria:                      -Hallazgos patológicos:</p>	

**APÉNDICE B**

Appendix 2A  
PERCENTILES, MEANS, AND STANDARD DEVIATIONS  
FOR PLACENTAL WEIGHTS BY GESTATIONAL AGE<sup>a</sup>

Gestation- al Age (weeks)	N <sup>b</sup>	Mean	SD	Percentile								
				3	5	10	25	50	75	90	95	97
22	19	189	89		99	107	130	166	206	285	499	
23	16	190	41			127	168	188	208	262		
24	16	190	42			128	157	192	222	252		
25	26	197	70		105	128	153	184	216	299	400	
26	22	226	100		107	138	179	200	259	281	570	
27	22	240	77		119	130	166	242	310	332	381	
28	41	223	66	103	128	140	173	214	261	321	361	371
29	37	269	96	124	135	161	214	252	309	352	496	629
30	42	324	88	185	190	208	269	316	374	433	502	570
31	57	314	105	142	152	175	246	313	360	417	479	579
32	69	325	77	161	214	241	275	318	377	436	461	465
33	117	351	83	190	224	252	286	352	413	446	475	504
34	160	381	84	221	260	283	322	382	430	479	527	558
35	260	411	99	232	250	291	344	401	471	544	600	626
36	538	447	110	270	291	320	369	440	508	580	628	679
37	1103	467	107	303	324	349	390	452	531	607	660	692
38	2469	493	103	320	335	365	420	484	560	629	675	706
39	3932	500	103	330	350	379	426	490	564	635	683	713
40	4114	510	100	340	360	390	440	501	572	643	685	715
41	1982	524	100	358	379	403	452	515	583	655	705	738
42	321	532	99	370	388	412	460	525	592	658	700	771

<sup>a</sup>Data derived from reference 2 with assistance from biostatistician Jane McCall.

<sup>b</sup>Number of placentas at each placental age; SD = standard deviation.

**Appendix 2C**  
**FETAL-PLACENTA WEIGHT RATIO PERCENTILES BY GESTATIONAL AGE<sup>a</sup>**

Gestation- al Age (weeks)	N <sup>b</sup>	Mean	SD	Percentile								
				3	5	10	25	50	75	90	95	97
22	19	2.9	0.8		1.0	1.0	2.0	2.4	3.6	3.9	4.3	
23	16	3.3	0.7				2.4	2.9	3.6	4.5		
24	16	3.4	1.0				2.0	2.6	4.0	4.6		
25	26	4.0	1.4		1.7	2.3	3.2	3.8	4.6	6.0	7.4	
26	22	4.1	1.2		2.1	2.8	3.4	3.7	4.8	5.2	7.7	
27	22	4.5	1.1		2.6	3.0	3.3	3.6	4.5	6.0	7.1	
28	41	4.8	1.0	2.3	2.5	3.6	3.9	4.2	4.7	6.5	6.6	6.9
29	37	5.2	1.4	1.9	2.5	3.7	4.4	5.0	5.7	7.5	8.0	9.2
30	42	5.2	1.1	2.7	3.1	3.6	4.5	5.1	5.8	6.8	6.9	7.6
31	57	5.5	1.1	3.3	4.1	4.4	4.7	5.4	6.2	6.9	7.3	8.2
32	69	5.9	1.2	3.2	4.1	4.4	5.0	5.8	6.8	7.7	7.9	8.4
33	117	6.0	1.1	4.3	4.5	4.7	5.2	6.0	6.6	7.7	8.2	8.7
34	160	6.2	1.0	4.4	4.7	5.0	5.5	6.1	6.7	7.5	7.9	8.2
35	260	6.4	1.2	4.5	4.7	5.0	5.6	6.3	7.2	8.0	8.6	9.1
36	538	6.6	1.1	4.8	4.9	5.3	5.8	6.4	7.3	8.1	8.4	8.8
37	1103	6.8	1.1	4.9	5.1	5.4	6.0	6.7	7.4	8.2	8.8	9.1
38	2469	6.9	1.1	5.1	5.2	5.6	6.1	6.8	7.5	8.3	8.9	9.2
39	3932	7.1	1.1	5.2	5.4	5.7	6.3	7.0	7.7	8.5	9.1	9.4
40	4114	7.2	1.1	5.3	5.5	5.8	6.4	7.1	7.9	8.6	9.1	9.5
41	1982	7.2	1.1	5.4	5.6	5.9	6.5	7.1	7.8	8.6	9.1	9.4
42	321	7.1	1.1	5.3	5.5	5.9	6.4	7.1	7.8	8.5	8.9	9.1

<sup>a</sup>Data derived from reference 2 with assistance from biostatistician Jane McCall.  
<sup>b</sup>Number of placentas at each placental age; SD = standard deviation.

*AFIP Placental Pathology, 2004*

# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA UROLÓGICA DE LA SEAP

*Coordinador: Julián Sanz Ortega (jsanzo@salud.madrid.org)*



# Introducción

**Julián Sanz Ortega**

Estas recomendaciones para el manejo anatomopatológico de muestras de riñón, vías urinarias, próstata, pene y testículo suponen una actualización de las ediciones anteriores realizadas por los miembros del Club de Patología Urológica en 2001 y 2015.

Los patólogos tenemos que proporcionar toda la información diagnóstica, pronóstica y terapéutica que se requiere para el manejo y tratamiento de las distintas patologías, especialmente del cáncer.

El desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas, pronósticas y biomarcadores predictores de respuesta terapéutica, exigen una permanente revisión de cuáles deben ser incorporadas a la práctica clínica, que garanticen la eficacia del diagnóstico anatomopatológico y la equidad en el acceso al mejor tratamiento posible para todos los pacientes.

Las recomendaciones, deben ser adaptadas por los patólogos según su práctica individual e institucional y de acuerdo a los medios disponibles. También sirven para que el patólogo tenga una referencia de lo que debe exigir a los gestores en su actividad asistencial, para poder cumplir su función con la máxima eficacia.

Las actuales guías se basan sobre todo en recomendaciones del Colegio Americano de Patólogos, ISUP e incorporan las modificaciones de la Clasificación de la OMS 2016 y TNM (AJCC) 8ª edición 2017.

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.





# 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 destaquen 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 (perirrenal 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 facultativo, 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, sobre todo 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, Melan A, CD10, Catepsina K, TFE3, WT1, CD1.
- 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

### A. En los TUMORES RENALES DEL ADULTO

- Para la clasificación de los tipos celulares se recomiendan las variaciones realizadas por la ISUP a la clasificación del 2016 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 recomiendan la clasificación de la OMS 2016 en la que los tres primeros grados se basan en el tamaño del nucleolo y el grado 4 en la anaplasia (sarcomatoide-rabdoide...) de la neoplasia. Esta gradación se ha validado en el carcinoma de células claras y en los carcinomas papilares. No está justificada en los otros subtipos, pero en ellos debe comunicarse la presencia de áreas anaplásicas. 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 octava edición. En esta edición hay pequeñas diferencias entre la UICC y la AJCC. En la primera no hay ninguna variación con respecto a la edición anterior (séptima) mientras que en la versión de la AJCC se ha añadido la invasión del sistema pielocalicial como T3a y en esta misma categoría se ha eliminado la expresión "invasión macroscópica venosa" y se ha sustituido "venas con pared muscular" por venas segmentarias. Son prácticamente iguales sólo que la versión de la AJCC engloba a todas las estructuras vasculares, excepto la microcirculación.

**B. 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), y las de la Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP) (6).

La OMS 2016 recomienda seguir los criterios de anaplasia y el estadio del Children's Oncology Group (COG) y de la International Society of Paediatric Oncology (ISUP)

### 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 Uro-pathology. *J Clin Pathol.* 2012;65:106-13.
4. Tumours of the kidney. H. Moch, P.A. Humphrey, T.M. Ulbright, V.E. Reuter (eds). pp: 12-76. WHO Classification of tumours of the urinary system and male genital organs (4th edition). IARC. Lyon 2016
5. TNM classification of malignant tumours. D. Brierley, MK. Gospodarowicz, C. Wittekind. Eight edition. Willey Blackwell 2017.
6. AJCC Cancer Staging Manual. Editors: Amin, M.B., Edge, S., Greene, F., Byrd, D.R., Brookland, R.K., Washington, M.K., Gershenwald, J.E., Compton, C.C., Hess, K.R., Sullivan, D.C., Jessup, J.M., Brierley, J.D., Gaspar, L.E., Schilsky, R.L., Balch, C.M., Winchester, D.P., Asare, E.A., Madera, M., Gress, D.M., Meyer, L.R. (Eds.) 8th Edition Springer 2016

7. 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 Trías<sup>1</sup>, Ainara Azueta<sup>2</sup>, David Ramos<sup>3</sup>**

*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 incluyan 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.

#### A. 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.

**EL DIAGNÓSTICO DEBE INCLUIR (dependiendo del centro, puede unificarse la descripción microscópica con el diagnóstico):**

- 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)

**B. 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.

**PIEZAS DE CISTECTOMÍA RADICAL:**

1. El carcinoma in situ puede extenderse por la uretra hasta ductos parauretrales y continúa siendo un in situ. La invasión de la próstata se considera un pT4 únicamente cuando invade el estroma. Por este motivo el informe debe reflejar el estado de la uretra prostática 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.
3. A veces no está clara la delimitación de la grasa perivesical, ya que la muscular propia se entremezcla en áreas con el tejido adiposo pericístico, por lo que la división entre pT2b y pT3a puede ser difícil.

**EL DIAGNÓSTICO DEBE INCLUIR (dependiendo del centro, puede unificarse la descripción microscópica con el diagnóstico):**

- **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.**
  - **Cistectomías 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**

1. 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, 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.

2. 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, S100P y p63. Debe tenerse en cuenta que el carcinoma urotelial puede tener muchas diferenciaciones morfológicas (diferenciación divergente) y cada una de ellas tiene su propio inmunofenotipo. En muchos casos conservan la expresión de CK7, GATA3, S100P o p63 pero en ocasiones pueden perderse de manera parcial por lo que es recomendable trabajar con paneles amplios que ayuden en el diagnóstico diferencial.
3. Hasta el momento no hay ninguna diana terapéutica estandarizada en protocolos de tratamiento, sin embargo la OMS reconoce la existencia de una clasificación de los carcinomas uroteliales infiltrantes en función del inmunofenotipo basada en la agresividad y en la sensibilidad o resistencia a tratamientos con quimioterapia neoadyuvante por lo que puede ser una información útil para el paciente. Se dividen en fenotipo basal, agresivo pero sensible a tratamientos neoadyuvantes (diferenciación escamosa con positividad a CK5/6, p63, EGFR y CD44 y negatividad a CK20), luminal (positivos a CK20 y negativos a CD44 y CK5/6), y un tercer tipo, aun poco definido en cuanto a su expresión, y que recibe diferentes nombres dependiendo de los autores pero que se caracterizaría por ser el más resistente a la quimioterapia neoadyuvante.
4. 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.

## V. ESTUDIOS MOLECULARES.

Aunque aún no están aceptados por toda la comunidad científica para ser incorporados en la rutina asistencial, vale la pena destacar que hay en marcha muchos estudios referidos a mutaciones de FGFR3, HER2 y P53 que junto con otras alteraciones relacionadas con tratamientos específicos (por ej. PDL1) pueden acabar siendo verdaderamente útiles por lo que en los próximos años podría ser interesante añadir los estudios moleculares al informe de anatomía patológica.

## Bibliografía

1. Ramani P, Birch BR, Harland SJ, et al. Evaluation of endotelial markers in detecting blood and lymphatic canal invasion in pT1 transitional 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 canal invasion and nodal metastasis and predicts poor 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 UroPathology (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) 445:103–10.
6. Osunkoya A.O., Grignon D.J Practical issues and pitfalls in staging tumors of the genitourinary tract.. *Seminars in Diagnostic Pathology* 2012; 29, 154-66.
7. Cheng L., Montironi R., Davidson 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.
13. TNM classification of malignant tumours. Editores Brierley J.D., Gospodarowicz M K y , Wittekind Ch.. Editorial Wiley Blackwell 2017.
14. Algaba F, Alvarez-Argüelles H, Condom E. y cols. Protocolos diagnósticos y pronósticos en uropatología. Club de Uropatología 2001.
15. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and male Genital Organs. Editores Moch H., Humphrey PA, Ulbright TM y Reuter V.. Editor IARC, 2016.
16. Choi W, Czemiak B, Ochoa A, y cols. Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Nat rev Urol* 2014 11:400-10.

# Recomendaciones en cáncer de próstata

Pilar Gallel<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Isabel Hierro<sup>2</sup>, Julián Sanz Ortega<sup>3</sup>, Inés de Torres<sup>4</sup>,

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

## I. RECOMENDACIONES DE ENVÍO DE LA MUESTRA EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA

Pilar Gallel

Todas las muestras deben ir acompañadas de petición de estudio donde constarán 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.

### 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 (6 cilindros por cada lóbulo prostático)

Ha demostrado ser mejor predictor del score de Gleason final que la biopsia sextante (3 cilindros por cada lóbulo prostático) pues reduce la necesidad repetir la biopsia prostática negativa, aumenta el valor predictivo de negatividad y muestra mayor concordancia con la pieza de prostatectomía (Burling 2013).

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 europeo recomienda identificar las muestras de cada lóbulo y separar diferentes áreas de un mismo lado, pero sugieren que las muestras procedentes de una misma zona (apical, media y basal) pueden juntarse en un mismo recipiente, pero sin poner más de dos cilindros en cada recipiente (6 recipientes).

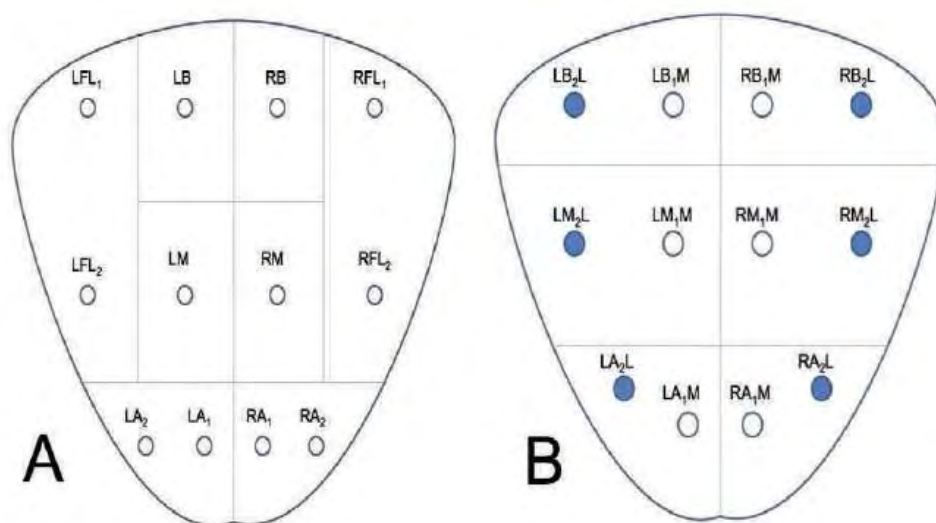
Tras una revisión exhaustiva de la literatura se proponen dos opciones adicionales (Taneja 2013):

**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), ápex (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:

- 1 cilindro de la región anterior del ápex.
- biopsia de un nódulo o una imagen sospechosa por RNM (PRADS).

Otras posibles biopsias:

- **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 con metástasis.

- **Biopsia por saturación** (de 18 a 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 de cualquiera de los tipos de biopsia mencionados han de enviarse fijados en formol al 10% tamponado. 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).

## 2. Biopsias de resección transuretral de próstata (RTU)

**Envío de la muestra:** fijada en formol tamponado al 10% en un recipiente de volumen adecuado para que la proporción entre el tejido y el fijador sea 10/1.

Cualquier distinción que quiera hacer el urólogo, debe hacerlo separando el material en distintos frascos.

## 3. Pieza de prostatectomía radical

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 patológico pueda distinguir con certeza absoluta entre la zona fibromuscular anterior y los haces musculares del cuello vesical.

- **Recomendaciones en el manejo:**

- 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 10-20/1.
- Ha de 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 ó 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 nucleicos), 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 (Gleason, volumen tumoral, borde 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 procesará poniendo OCT y se congelará en isopentano inmediatamente.

## II. ESTUDIO MACROSCÓPICO PRÓSTATA: MANIPULACIÓN DE LAS PIEZAS. DATOS A REFLEJAR EN LA DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA. RECOMENDACIONES PARA SELECCIÓN DE SECCIONES DE TALLADO

Pilar Gallel

Se describen a continuación como manipular los diferentes tipos de muestras prostáticas así como las recomendaciones de tallado y la información que deberá constar en el informe macroscópico.

### 1. CILINDROS PROSTÁTICOS (BIOPSIA MEDIANTE AGUJA)

#### Descripción macroscópica y manejo:

En la descripción macroscópica y el manejo de este material ha de constar la siguiente información:

- Número de cilindros y su procedencia (según la identificación del solicitante).
- Longitud de los cilindros.

Se deberán incluir los cilindros estirados y orientados entre dos esponjillas de nylon.

Ventajas: mejora el diagnóstico de cáncer y disminuye el de lesiones atípicas.

### 2. MATERIAL PROSTÁTICO OBTENIDO POR RTU

#### Descripción macroscópica y selección del material

Cuantificar el material. Recomendamos pesar en conjunto todo el material procedente de la RTU, 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.

- a) Las muestras de 12gr o menos deben incluirse en su totalidad.
- b) 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.
- c) Si se encuentra carcinoma en menos del 5% del material, hacer inclusión total.
- d) En pacientes menores de 65 años incluir todo el material para identificar todas las lesiones T1a (Epstein 2008)
- e) Si en los primeros 8 cassetes se ha detectado carcinoma T1b no es necesario incluir más tejido.

### 3. PIEZA DE PROSTATECTOMÍA 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 sumergiéndola 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 (anterior 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:

Comenzar el tallado por una sección gruesa del ápex, 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 realizar cortes paralelos de 3-4mm, de ápex a base, perpendiculares a la uretra, con hojas de bisturí muy largas (22) para lograr un corte homogéneo.

Puede fotografiarse el conjunto de los cortes, una vez seccionada la pieza manteniendo la orientación.

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 según las directrices de 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 más natural el recuento de las 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 vasculonerviosos 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.

#### 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 dessequen.
- Es mejor pesar que medir los fragmentos procedentes de la RTU.
- Si se recibe cualquier biopsia en un recipiente inadecuado (muy pequeño para par la correcta fijación del tejido), cambiarlo a uno adecuado inmediatamente.
- Informar a los clínicos de 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.

#### 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 ápex 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

### 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<sup>a</sup> Isabel Hierro

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 (Amin 2005, 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 es-

pecíficas 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 y
- (4) la naturaleza y dosificación de la terapia de radiación.

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, la vigilancia activa (VA) es una alternativa para hombres con enfermedad de bajo riesgo. Los criterios de elegibilidad para la VA varían, pero suelen incluir parámetros de volumen de cáncer además del Grado Gleason (Abdollah 2001, Andriole 2009, Schroder 2009, Bangma 2013, Amin 2014). Pacientes con CaP con características ductales, sarcomatoides, carcinoma neuroendocrino de células pequeñas o carcinoma intraductal no son candidatos para VA, ya que estas variantes se asocian con peor pronóstico. La invasión perineural no excluye la inclusión de un paciente en VA.

## 1. BIOPSIA DE PRÓSTATA EXTENSIVA: QUÉ EVALUAR Y COMO CUANTIFICAR LA AFECTACIÓN TUMORAL Y EL SCORE GLEASON

La información histopatológica que ofrezca la biopsia va a ser usada por el urólogo para establecer una actitud terapéutica de menor o mayor agresividad según la probabilidad de invasión extracapsular o de progresión que se derive de los datos que aporta.

En la tabla 1 se recogen todos los datos que se recomienda sean informados en la biopsia de próstata con CaP (Fine 2012, Van der Kwast 2013), habiéndose incorporado recientemente al diagnóstico el *grupo de grado pronóstico*, además de informar de la presencia de *carcinoma intraductal* (el protocolo CAP 2016\* lo introduce como ítem independiente, recogiendo siempre su no identificación o presencia), así como el % de patrones de alto grado.

**Tabla 1. Elementos esenciales de información en biopsia con aguja con Ca. Próstata**

- |  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gradación de Gleason: patrones presentes, puntuación total o score Gleason y Grupo de grado pronóstico</li> <li>• Porcentaje de patrones de Gleason 4 y 5*</li> <li>• Número de cilindros positivos/ nº total cilindros</li> <li>• Cuantificación del Tumor o extensión (porcentaje de afectación y / o medida lineal en mm)</li> <li>• Datos para estadificación (extensión extraprostática / infiltración de vesículas seminales) o infiltración perineural, si presentes.</li> <li>• Cambios relacionados con el tratamiento, si presentes.</li> <li>• Lesiones precursoras o de riesgo: PIN, Ca. Intraductal*, ASAP o atipia glandular</li> <li>• Otros hallazgos del parénquima benigno</li> </ul> |
|--|

\*CAP Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland Protocol applies to acinar adenocarcinomas and histologic variants of the prostate gland.

Version: Prostate 3.3.0.0. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition

Protocol web posting date: August 2016.

### a) 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.

Idealmente, y siempre que 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)

En la nueva Clasificación de la OMS 2016 de los Tumores de Próstata se describe el nuevo Sistema de Gradación de Gleason modificado ISUP 2014 y se presenta el nuevo diagrama esquemático de patrones de Gleason ISUP 2015. Se recoge que la gradación inicial debería ser realizada a 4x y 10x, usando el 20x sólo cuando sea necesario para verificar el grado. (Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter V. Ed. WHO 2016), con la siguiente asignación de patrones como norma general: glándulas individuales bien formadas, hiperplásicas de tamaños variables, atróficas y microquísticas corresponden a patrón 3; glándulas mal formadas o fusionadas, glándulas cribiformes o glomeruloides, de cualquier tamaño, corresponden a patrón 4 (los adenocarcinomas mucinosos, según la arquitectura glandular, pueden ser patrón 3 ó 4); y células individuales, en sábana, en hilera y/o comedonecrosis a patrón 5. Sólo se dará un patrón 4 ante un grupo de glándulas pobremente formadas cuando esté claro que no corresponde a artefactos o sección tangencial de glándulas patrón 3.

**b) 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.

**c) Consenso 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 (por 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 en la misma. 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 de la gradación de 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 por 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 la gradación Gleason modificada ISUP 2005 todavía permite en muy raras ocasiones una puntuación de Gleason 5 (3 + 2) en la biopsia, en general, *el patrón más bajo de crecimiento que puede ser evaluado con una biopsia, es el patrón 3, lo que implica que un score Gleason de 6 será el más bajo posible.*

El impacto más profundo de estos cambios ha sido que ahora el SG 7 es el más comúnmente asignado en muchos lugares (Billis 2008, Zareba 2009). La distinción entre biopsias con SG 7 (3+ 4) y aquellos con un SG 7 (4 + 3) tiene importante impacto clínico (Stark 2009). *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). Algunos recomiendan además de informar el Gleason global, tener en cuenta los componentes del grado y su extensión en todos los cilindros de biopsia (Tolonen 2011). Aunque algunas publicaciones han demostrado que el porcentaje de un alto grado es más informativo que el SG global (Vis 2007, Kunju 2009, Reese 2012). Tanto para biopsias como para piezas de prostatectomías, si el grado o SG es 7 o mayor, se recomienda informar el porcentaje de patrón 4 y 5 (porque puede tener implicaciones en las decisiones de manejo del paciente como la vigilancia activa y la radioterapia, así como valor pronóstico).

**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**
Grado o score Gleason 7.	Se recomienda informar el % de patrón 4.

Modificado de 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.

\*\* 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 múltiples 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).

La evolución anteriormente descrita, ha sido consecuencia del valor pronóstico reconocido en distintos estudios de agrupar los SG (GS 6, 7, 8 y 9-10), ya que cada grupo se comporta peor que el grupo

anterior. Además la subestratificación de GS 7 basado en el grado primario (es decir, SG 3 + 4 vs SG 4 + 3) también ha demostrado influenciar los resultados patológicos y clínicos y debe ser rutinariamente reportado. también los tumores con SG 9-10 se asocian con un pronóstico mucho peor que los tumores con GS 8, de manera que un SG8-10 podría no ser considerado como un grupo homogéneo. Todo ello ha llevado a los expertos a la propuesta de reagrupar los grados de Gleason según grupos de grado pronósticos que reflejen con mayor precisión el pronóstico de la siguiente manera: Gleason  $\leq 6$   $\rightarrow$  grupo de grado pronóstico 1; Gleason 3 + 4 = 7  $\rightarrow$  grupo de grado pronóstico 2; Gleason 4 + 3 = 7  $\rightarrow$  grupo de grado pronóstico 3; Gleason 4 + 4 = 8  $\rightarrow$  grupo de grado pronóstico 4, y Gleason 9-10  $\rightarrow$  grupo de grado pronóstico 5 (Berman and Epstein 2014, Epstein et al 2016). Estos grupos pronósticos ya han sido incorporados en la publicación de la OMS 2016, recogiendo sus beneficios: 1) estratificación del grado más exacta, 2) categorización del grado simplificada a 5 grupos y 3) una escala más intuitiva, que se inicia en el 1 en vez de en el 6.

Se introducen pues en el diagnóstico los Grupos de Grado pronóstico por su valor pronóstico-terapéutico, que deben usarse con los criterios del Sistema de Gradación de Gleason modificado ISUP 2014:

**Tabla 3. Sistema de Gradación de Gleason modificado ISUP 2014**

Grupo de grado	Score Gleason	Definición
1	$\leq 6$	Glándulas bien formadas
2	3+4=7	Glándulas predominantemente bien formadas con menor componente de glándulas mal formadas / fusionadas / cri-biforme
3	4+3=7	Glándulas predominantemente mal formadas / fusionadas/ cri-biformes, con menor componente de glándulas de bien formadas
4	4+4=8 3+5=8 5+3=8	Solo glándulas mal formadas / fusionadas/ cri-biformes Glándulas predominantemente bien formadas y en menor componente que carecen de glándulas (o con necrosis) Predominantemente, carecen de formación de glándulas (o con necrosis) y con menor componente de glándulas bien formadas
5	4+5=9 5+4=9 5+5=10	Pérdida de la formación de glándulas (o con necrosis) con o sin glándulas pobremente formadas / fusionadas / cri-biformes

Finalmente, la información esencial de cada muestra se podría transmitir con una simple línea de diagnóstico, como "Adenocarcinoma, Gleason 3 + 4 = 7 (grupo de grado pronóstico 2), en 1 de 2 cilindros, afectando el 20% del cilindro/tejido, con una medición de 3 mm de largo.\*

\*CAP Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland  
Protocol applies to acinar adenocarcinomas and histologic variants of the prostate gland.

Version: Prostate 3.3.0.0. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition. Protocol web posting date: August 2016.

#### \*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 sólo en el caso de cambios mínimos (Tabla 4) .



**Tabla 4. Gradación de los cambios inducidos por RT en el carcinoma de próstata**

Gravedad de los efectos de la radiación	Hallazgos	Información del 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

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 graduable como cáncer con efecto de RT, un enfoque razonable es asignar un GS y añadir una nota indicando: " El Gleason asignado refleja la porción graduable del carcinoma (%); el cáncer restante muestra intenso efecto del tratamiento RT (Fine 2012)

Es importante determinar si el cáncer presente es graduable: para los pacientes que tienen sólo cáncer con intenso efecto del tratamiento, no graduable, 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 graduable post-RT (Zelevsky 2008).

#### **Gradación de Gleason tras Terapia de privación de andrógenos**

Existen varias modalidades de terapia con grado variable de privación de andrógenos. Ha sido recientemente 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, crioblación 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 hemosiderina, 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).

Cuantificación de la afectación por carcinoma de próstata en biopsias cilíndricas

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 CP 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/s afectado/s.*** Alternativamente, la extensión del cáncer por cilindro puede ser pro-



porcionado 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 una medición exacta puede realizarse con ocular milimetrado, midiendo la longitud del cáncer respecto a la longitud total del cilindro, la mayoría de patólogos evalúan el porcentaje de afectación del cilindro por CaP calculándolo "a ojo", ya que la medición real de la longitud de carcinoma es una práctica laboriosa que consume tiempo

Otra cuestión es cómo medir *cuando el cáncer se distribuye como focos de CP 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 glándulas prostáticas benignas y estroma, algunos patólogos "colapsan" los focos de tumor 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 implicaría el 80% del cilindro) (Karram 2011) o, un tercer grupo, lo considera discontinuo y hace el sumatorio de los focos para dar el % si entre ellos hay una distancia > 3 o 5 mm, entre los focos discontinuos (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). 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*, lo cual 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).

## **2. ESTUDIO MICROSCÓPICO E INFORME DE LAS MUESTRAS DE RTU: QUÉ EVALUAR Y COMO CUANTIFICAR LA AFECTACIÓN TUMORAL Y EL SCORE GLEASON**

La RTU encuentra cánceres incidentales en 4-16% de los pacientes intervenidos por hiperplasia nodular (HBP) (Zigeuner 2003, Capitano 2008), 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 la terapias médicas y ablativos para la HBP (Capitano 2011).

### **Gradación Gleason**

Las normas descritas para biopsias se aplican a las muestras de RTU.

### **Cuantificación del Tumor**

Determinar la proporción (porcentaje) de tejido prostático infiltrado por CaP en muestras de RTU es importante. Cuando se descubre el cáncer de próstata 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 clínica, con ≤5% de afectación siendo T1a y > 5% siendo T1b*.

En la práctica actual no hay consenso en cuanto al muestreo requerido, 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 puede ser examinado en los hombres más jóvenes con <5% de cáncer en el muestreo subtotal inicial (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. Este último es más difícil de evaluar, especialmente en las grandes resecciones, y el porcentaje de chips involucrados proporciona información valiosa.*

## 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. 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.
3. Amin MB, 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.
4. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL 3rd, Buys SS, Chia D, Church TR et al (2009) Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med* 360(13):1310–9
5. Bangma CH, Bul M, Van der Kwast TH, Pickles T, Korfage IJ, Hoeks CM et al (2013) Active surveillance for low-risk prostate cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 85(3):295–302.
6. Berman DM and Epstein JI: (2014). When is prostate cancer really cancer? *Urol Clin North Am*. 41 (2):339-46.
7. 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.
8. Berney DM, Algaba F, Camparo P, et al (2014): Variation in reporting of cancer extent and benign histology in prostate biopsies among European pathologists. *Virchow Archives* 464:583-7.
9. 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.
10. 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):432–40.
11. 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.
12. Capitanio U, Scattoni V, Freschi M, et al. (2008). Radical prostatectomy for incidental (stage T1a-T1b) prostate cancer: analysis of predictors for residual disease and biochemical recurrence. *Eur Urol*; 54:118–25.

13. Capitanio U. (2011). Contemporary management of patients with T1a and T1b prostate cancer. *Curr Opin Urol* 21:252–6.
14. 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.
15. 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..
16. Epstein JI (2011) Prognostic significance of tumor volume in radical prostatectomy and needle biopsy specimens. *J Urol*; 186(3):790–7.
17. 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):1228-42.
18. Epstein JI (2010) An update of the Gleason grading system. *J Urol*. Feb;183(2):433-40
19. Epstein JI, Srigley J, Grignon D, Humphrey P. (2007). Recommendations for the reporting of prostatic carcinoma. *HumPathol*;38:1305–9.
20. Epstein JI, Zelefsky MJ, Sjoberg DD et al (2016). A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur Urol*. Mar;69(3):428-35.
21. Evans AJ, Ryan P, Van der Kwast T (2011) Treatment effects in the prostate including those associated with traditional and emerging therapies. *Adv Anat Pathol* 18(4):281–93.
22. 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.
23. Hameed O, Humphrey PA. (2006). Stratified epithelium in prostatic adenocarcinoma: a mimic of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol*;19:899–906.
24. Heidenreich A, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, 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.
25. 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): vi106–vi114.
26. 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.
27. 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.

28. 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
29. 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*.
30. 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*. 298:1533-38.
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. 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: 1309–22.
33. 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.
34. 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.
35. Tolonen TT, Kujala PM, Tammela TL, et al (2011). Overall and worst Gleason scores are equally good predictors of prostate cancer progression. *BMC Urol*.; 11:21-6.
36. 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.
37. 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* 463:367–77.
38. 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.
39. WHO (World Health Organization) (2016). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organ. IARC Press, Lyon, France.
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.
41. Zelefsky MJ, Reuter VE, Fuks Z, Scardino P, Shippy A (2008). Influence of local tumor control on distant metastases and cancer related mortality after external beam radiotherapy for prostate cancer. *J Urol*;179:1368–73.
42. Zigeuner RE, Lipsky K, Riedler I, et al. 2003. Did the rate of incidental prostate cancer change in the era of PSA testing? A retrospective study of 1127 patients. *Urology*;62:451–5.

#### 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<sup>a</sup> Isabel Hierro

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):

Tabla 5. Guía clínica

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 multiparámetrica puede ayudar a decidir cuándo realizar procedimiento preservador de nervios en CaP de intermedio y alto riesgo.	2b	B

GS = Gleason score; RM = resonancia magnética; CaP = cáncer de próstata,

NE: nivel de evidencia, GR: grado de la recomendación

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. Considerando especialmente las recomendaciones de los grupos de trabajo convocados en las Conferencias de Consenso internacional de la ISUP 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 PR.

**Tabla 6. Parámetros mínimos que debe incluir el informe de la pieza de prostatectomía radical**

- **Tipo histológico:** 90-95% de CaP son adenocarcinoma convencional (acinar)
- **Gradación de Gleason:** patrón primario + patrón secundario (incluir / comentar presencia de un patrón terciario si es mayor que los otros dos y > 5%\*). Grupo de grado pronóstico.
- **% de patrón 4 si el score Gleason  $\geq 7$**
- **Volumen tumoral:** % afectación de la glándula y/o tamaño del tumor o nódulo dominante si presente (diámetro máximo +/- dimensión/es adicional/es)
- **Extensión extra-prostática:** Ausente / Presente: 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
  - Patrón de Gleason presente en el margen
- **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

\*Si el patrón terciario es mayor que los otros dos y ocupa >5% del tumor, algunos patólogos -y así recomienda la publicación de la WHO 2016-, lo incorporan al score Gleason como patrón secundario.

\*CAP Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland.

Version: Prostate 3.3.0.0. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition. Protocol web posting date: August 2016

## 1. 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).

### 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. En cuanto a la puntuación o score Gleason si presenta tres patrones, se modifica respecto a la forma de cuantificación previa: si existe un patrón terciario mayor que el primario y el secundario que comprende > 5% del tumor, se incorpora al score o puntuación Gleason como secundario. La presencia de un patrón terciario de alto grado: 4 o 5, 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, Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter V. Ed. WHO 2016).



Así pues, deben informarse tanto los patrones como el SG total, siendo las fórmulas más recomendadas y usadas: score Gleason 7 (4+3) o score Gleason 4+3=7, donde el patrón primario, o más predominante, va el primero (otras fórmulas 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?).

Si hay varios nódulos tumorales individuales a cada uno se asignará su score Gleason separado. Una puntuación o score Gleason global se da cuando hay múltiples tumores pequeños o multifocalidad, pero si hay un foco tumoral claramente separado con una puntuación de Gleason superior también debe ser mencionado. 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, en lugar de dar una puntuación promedio.

## 2. 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 complican 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 estadiaje menor a un único tumor grande, 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 glándula 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 conteo 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 marcaje 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 insignificantes 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 representa 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).

### 3. 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, por su valor en análisis multivariantes como predictor independiente de recurrencia bioquímica, que mejora cuando se subdivide en focal vs no-focal.*

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 (o establecida) está más ampliamente extendida a partir del borde de la próstata.*

#### 4. 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 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 < 0.1mm, 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 recogidas 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, *se recomienda dar como indicación de la extensión del margen positivo, la extensión lineal en milímetros, considerando focal < 3 mm y no focal 3 mm o más, y si es incisional o en área de extensión extra-prostática (por tener este último peor significado pronóstico), así como informar el patrón Gleason presente en el margen positivo, por la correlación de patrones 4 y 5 con recurrencia bioquímica.*

## 5. 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 (pseudotumor), 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.

## 6. 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 (CAP 2016)*, no recomendado en la última publicación de la OMS (Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter V. Ed. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. 2016).

## 7. 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.

## 8. 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.

## 9. 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 o 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 MJ, 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](http://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.

## V. DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA: TIPOS Y SUBTIPOS HISTOLÓGICOS. GRADACIÓN HISTOLÓGICA. DIAGNOSTICO POST-TRATAMIENTO.

Julián Sanz Ortega

### 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.
  - Microquística: (bajo grado).
  - Variante pleomórfica de células gigantes. Es rara, con células bizarras y multinucleadas sin componente fusocelular (sarcomatoide). Suelen asociarse a acinar de Gleason 9, y por tanto graduarse como grupo 5 de la OMS. En las demás, no hay variaciones sobre lo ya descrito.
  - Carcinoma mucinoso/coloide: Excluir origen extraprostático siempre. Difícil de graduar, si hay células sueltas o en hilera flotando en la mucina no hay consenso, pero sí en dar patrón 4 a glándulas cribiformes flotando en la mucina.
- 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 VI.1) se



recomienda Protocolos del Cáncer de Próstata 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 de células pequeñas y tumores neuroendocrinos:**

Los criterios diagnósticos son iguales que en neuroendocrinos pulmonares.

- Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña, 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).
- Tumor neuroendocrino bien diferenciado (carcinoide), Adenocarcinoma con diferenciación neuroendocrina de células de tipo Paneth, Carcinoma neuroendocrino de células grandes. No usar Gleason.

e) **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.

f) **Otros:** Carcinoma sarcomatoide, Carcinoma adenoide quístico/ basaloide, carcinoma con diferenciación escamosa/epidermoide, tumores del estroma prostático, adenocarcinoma de vesícula seminal: No gradar con Gleason.

**Tabla 1. Recomendaciones para informar el Gleason de las variantes de adenocarcinoma acinar y otros tipos de carcinoma de próstata**

VARIANTE/TIPO	GRADO O PATRÓN DE GLEASON
V. Atrófica	3
V. Pseudohiperplásica	3
V. Espumosa	3 ó 4 (dependiendo de la arquitectura glandular)
V. Vacuolas	3, 4 ó 5 (extraer vacuolas/gradar según arquitectura)



VARIANTE/TIPO	GRADO O PATRÓN DE GLEASON
V. Pleomórfica de células gigantes	Se acompaña con AC Acinar Gleason 9
AC Mucinoso (coloide)	4 (sobre la base de mucina extracelular sólo) ó 3 ó 4 (extraer mucina/gradar según arquitectura)
AC Ductal	4 y si tiene comedonecrosis 5
Ca Sarcomatoide	5 (componente glandular se clasifica por separado)
Ca de células en anillo de sello	5
Ca neuroendocrinos	No gradar
Ca de células escamosas	No gradar
Ca Basalioide	No gradar

## 2. DIAGNOSTICO 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 4, 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 sobre graduación...
- **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 der Kwast 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):125–128.
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. Hameed O, Humphrey PA.(2006). Stratified epithelium in prostatic adenocarcinoma: a mimic of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol*;19:899–906.
10. Humphrey PA (2012),: Histological variants of prostatic carcinoma and their significance *Histopathology* 60, 59–74.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. WHO (World Health Organization) (2016). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organ. IARC Press, Lyon, France.

## VI. RECOMENDACIONES PARA LA EMISIÓN DE UN INFORME PROTOCOLIZADO.

Julián Sanz Ortega

### 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 **filiación** 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).

## 2. Biopsias por cilindro:

*Qué poner en el diagnóstico y qué en microscópico:*

Las siguientes variables que deben figurar en el informe:

- DTCO Tipo histológico: Adenocarcinoma (acinar)/ otros subtipos
- Gleason (ver capítulos 4 y 5)
- 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).
- Infiltración: Si se identifican y si hay infiltración de: perineural, grasa periprostática o de vesículas seminales.
- Infiltración linfo-vascular, si/no.
- 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.

## 3. RTU:

Las siguientes variables que deben figurar en el informe:

- DTCO Tipo histológico: Adenocarcinoma (acinar)/ otros subtipos. Si es menos del 5% del tejido y Gleason 6 o menor, se diagnostica como adenocarcinoma incidental.
- Gleason (ver capítulos 4 y 5)
- Cantidad de tumor y proporción. Debe incluir el número de fragmentos afectados y/o, % del total de tejido en todos los fragmentos cilindro (obligatorio).
- Infiltración: Si se identifican y si hay infiltración de: perineural, grasa periprostática o de vesículas seminales.
- Infiltración linfo-vascular, si/no.
- Otros hallazgos (especificar): efecto tratamiento, prostatitis, PIN, adenosis, atrofia...

## 4. Prostatectomía

Las siguientes variables deben figurar en el informe:

- Tipo histológico (requerido): Adenocarcinoma (acinar)/ otros subtipos.
- Gleason (requerido). (Ver capítulos 4 y 5).
- Cantidad de tumor y proporción. Localización (requerido). (ver capítulos 4 y 5).
- 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  $> 0$  < a 1 CGA en máximo de 2 focos. Como "recomendable" además especificar la localización de la extensión extraprostática.

- 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.
- 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.
- Ganglios linfáticos: Hay que numerar cuantos se han identificado y cuántos 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.
- Otros hallazgos (especificar): efecto tratamiento, prostatitis, PIN, atrofia...
- Estadío: Usar siempre TNM 7th: Especificar y añadir prefijo si es m (múltiple), r (recurrente), o (postratamiento).

Las dos primeras y el estadio 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* 34:994-1000
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 distintos 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.-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 metastásicos:.....

(Describir lateralidad y tamaño máximo:.....)

8.- Estadio patológico TNM 7th: pT..N..

## VII. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS Y MOLECULARES EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA: MARCADORES RECOMENDADOS Y ALGORITMOS DIAGNÓSTICOS. MARCADORES PRONÓSTICOS.

Inés de Torres

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?

### 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 inmunoeexpresión 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-hiperplasia, 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 (cromógeno 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?

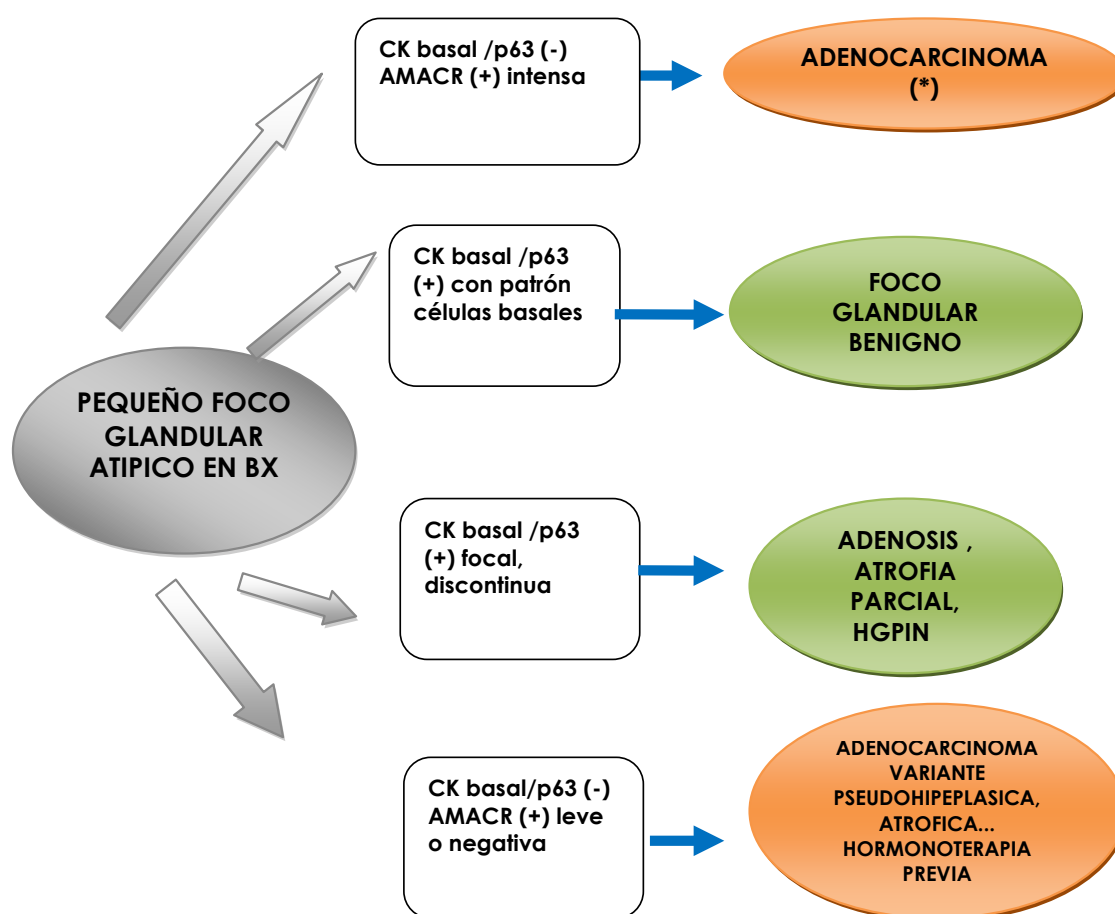
- Se debe analizar la inmunoexpresión no solo en el foco sospechoso sino **en todo el cilindro** ya que puede haber fragmentación de las glándulas (que se identifica en la arquitectura glandular del cilindro completo) o bien se pueden observar otras áreas claramente neoplásicas que no estaban representadas 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.

## 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.



**Algoritmo 1-** (\*) El diagnóstico de cáncer de próstata en foco glandular sospechoso debe estar siempre basado en criterios morfológicos correlacionados con la inmunohistoquímica.

### 3. MARCADORES INMUNOHISTOQUIMICOS EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO CON OTROS TUMORES

#### A. 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:

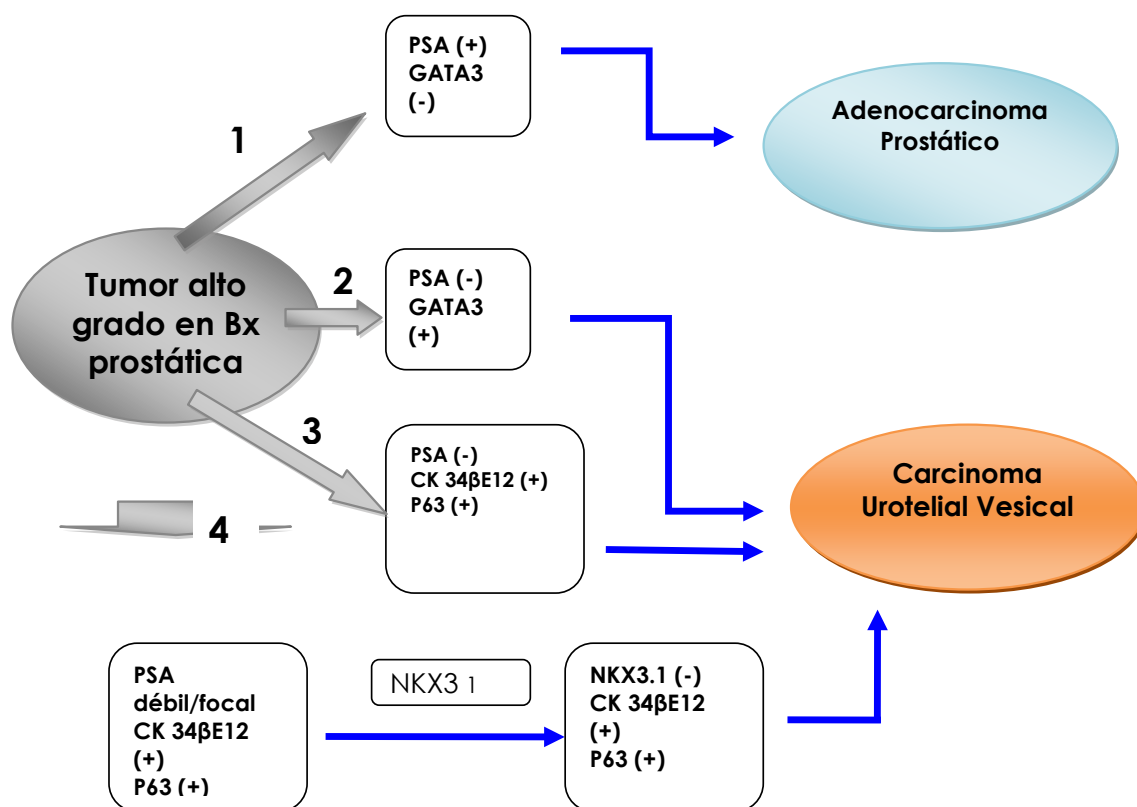
- 1) la expresión para PSA que es negativa en carcinoma urotelial, también puede ser negativa por su expresión heterogénea, en el adenocarcinoma de próstata poco diferenciado.
- 2) la expresión para citoqueratinas CK7 y CK20 característica de carcinoma urotelial también se observa en adenocarcinoma de próstata de alto grado. 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 34βE12 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 excelente 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 -

**B. 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 carcinoma 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.

#### C. 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.

#### 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 Immunohistochemistry-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- rase- mase (P504S) in foamy gland and pseudohyperplastic prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2003; 27(6):772-8.

## VIII. RECOMENDACIONES ADICIONALES Y PREGUNTAS FRECUENTES DEL PATÓLOGO EN EL DIAGNOSTICO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

Pilar Gallel, Isabel Hierro, Julián Sanz e Inés de Torres

### A. PREGUNTAS FRECUENTES EN EL ESTUDIO E INFORME DE LA BIOPSIA CON CÁNCER DE PRÓSTATA

#### 1. 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 circunscripción 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.

## 2. 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).

## 3. ¿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 lo calculo 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.

## B. PREGUNTAS FRECUENTES EN EL ESTUDIO E INFORME DE LA PIEZA DE PROSTATECTOMÍA RADICAL.

### 1. ¿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

## 2. ¿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.

## 3. ¿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.

## 4. ¿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.

## 5. ¿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.

### C. PREGUNTAS FRECUENTES EN EL ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE LA BIOPSIA PROSTÁTICA

#### 1. ¿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 inmunohistoquímico. 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.

#### 2. ¿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.

#### 3. 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. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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
6. 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.
7. Petraki CD, Sfikas CP. Histopathological changes induced by therapies in the benign prostate and prostate adenocarcinoma. *Histol Histopathol* 2007; 22(1):107-18.

# Guía de manejo de muestras correspondientes a patología neoplásica del pene

Rafael J. Luque Barona<sup>1</sup>, Eugenia García Fernández<sup>2</sup>, Rocío Solórzano Mariscal<sup>1</sup>

1 Complejo Hospitalario de Jaén

2 Hospital Universitario "La Paz", Madrid.

## 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:

### 1. Manipulación de los distintos tipos de piezas (muestras)

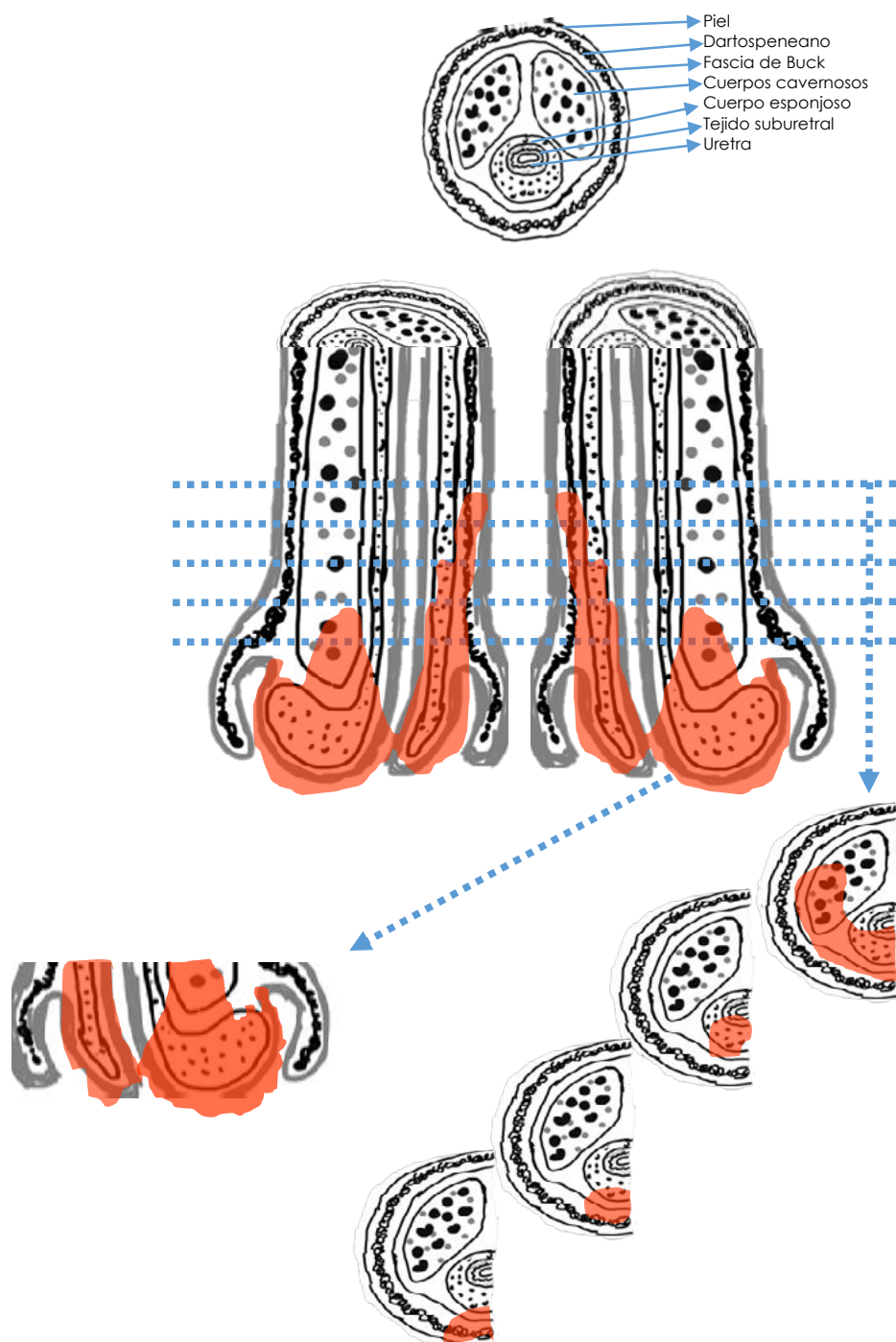
a. **Piezas de circuncisión:** Se tomarán las medidas en tres dimensiones, describiendo el aspecto externo, identificando la localización y características del tumor presente en la muestra para reflejarlas en la descripción macroscópica. Se recomienda identificar los márgenes mucoso y cutáneo con tinta 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.

b. **Piezas de penectomía (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 glande 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.

## 2. Datos a reflejar en descripción macroscópica

- a. **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.
- b. **Piezas de penectomía (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.

## 3. Protocolo recomendado de selección de las secciones en tallado

- a. **Pieza 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.
- b. **Pieza de penectomía:** 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. DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA

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.

## IV. DIAGNÓSTICO (criterios, datos que deben figurar en el diagnóstico: clasificaciones recomendadas de tipo histológico, grado, estadio, márgenes, otros factores pronósticos, otros hallazgos adicionales, ...)

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
- 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 de 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 peneana, 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 extracapsular.

La clasificación del tipo histológico se realizará de acuerdo a la actual clasificación de neoplasias de la OMS (2016), clasificación actualizada, basada en:

- Correlación clínico-patológica.
- Relación con HPV.

#### Clasificación OMS 2016 de los carcinomas de pene

##### **Tumores epiteliales malignos**

##### Carcinoma epidermoide no relacionado con HPV:

- Carcinoma epidermoide, tipo usual.
- Carcinoma pseudohiperplásico.
- Carcinoma pseudoglandular.
- Carcinoma verrucoso.
- Carcinoma cuniculado.
- Carcinoma epidermoide papilar, NOS.
- Carcinoma adenoescamoso.
- Carcinoma epidermoide sarcomatoide (fusocelular).
- Carcinoma epidermoide mixto.

##### Carcinoma epidermoide relacionado con HPV:

- Carcinoma epidermoide basaloide.
- Carcinoma basaloide-papilar.
- Carcinoma condilomatoso.
- Carcinoma condilomatoso-basaloide.
- Carcinoma epidermoide de células claras.

##### Carcinoma tipo linfoepitelioma.

##### Otros carcinomas poco frecuentes.

##### **Lesiones precursoras**

- Neoplasia intraepitelial peneana condilomatosa, basaloide, condilomatosa-basaloide (relacionada con HPV)
- Neoplasia intraepitelial peneana diferenciada (no relacionada con HPV).

##### **Tumores melanocíticos**

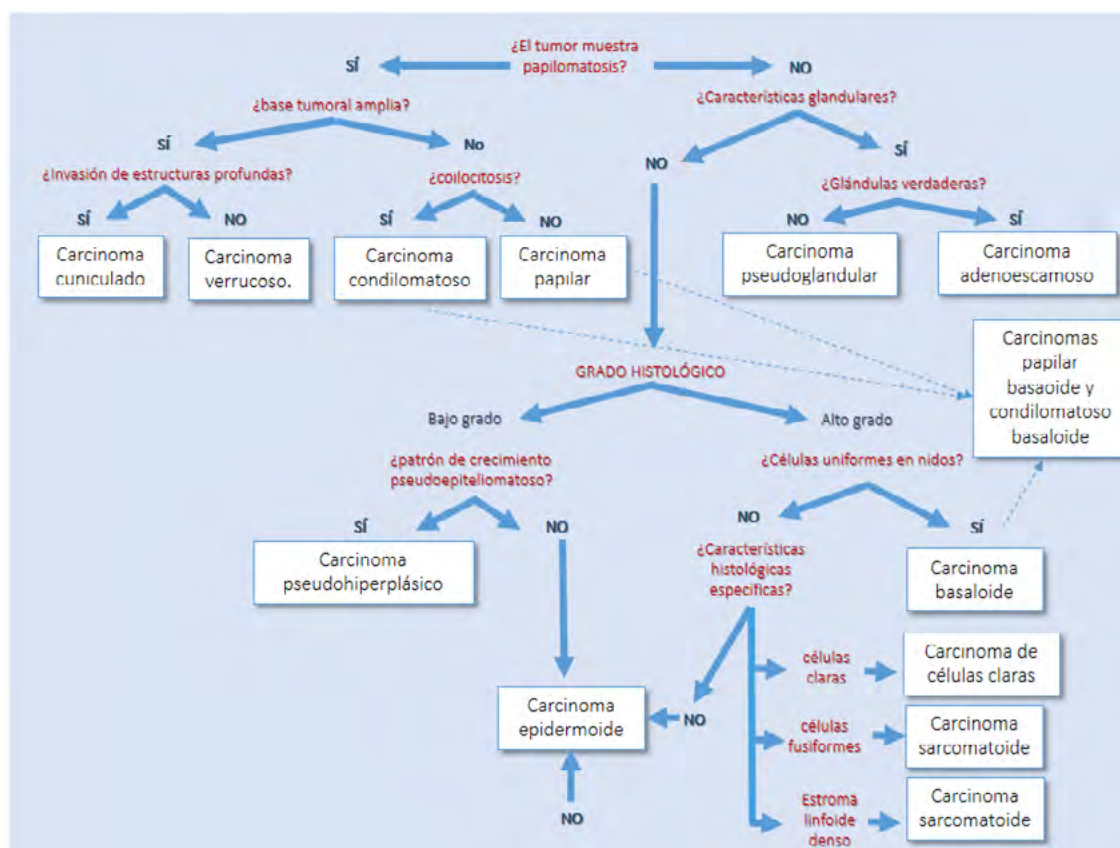
##### **Tumores mesenquimales**

##### **Linfomas**

##### **Tumores secundarios**

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 diferenciado 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 (figura 2):



**Figura 2:** Algoritmo diagnóstico histológico para los carcinomas de pene [basado en 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,

## V. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS-MOLECULARES:

### Marcadores recomendados en DD, algoritmos diagnósticos, marcadores pronósticos...

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.

El uso de p16 como marcador de infección por HPV puede ser un auxiliar para la correcta valoración de los tipos histológicos de carcinoma epidermoide según la actual clasificación de la OMS, así como para diferenciar los distintos tipos de neoplasia intraepitelial peneana (PeIN), 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.

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.

### 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

**ADDENDUM: Modificación del sistema TNM del AJCC (8ª edición).**

Consideramos interesante exponer las diferencias en los criterios de estadiaje entre la 7ª y la 8ª edición del sistema de estadiaje de la AJCC (TNM), a tener en cuenta en la práctica diaria:

TNM 7ª ed	TNM 8ª ed
pT1: Invasión del tejido subepitelial:	pT1: En las distintas localizaciones: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Glande: El tumor invade la lámina propia.</li> <li>• Prepucio: El tumor invade la dermis, lamina propia o la fascia del dartos.</li> <li>• Tallo peneano/cuerpo: El tumor invade el tejido conectivo entre la epidermis y los cuerpos (cavernoso/esponjoso), independientemente de la localización.</li> </ul>
pT1a: Invasión del tejido conectivo subepitelial, sin invasión linfovascular y no es poco diferenciado (grado 3-4).	pT1a: Tumor sin invasión linfovascular o perineural y NO es de ALTO GRADO.
pT1b: Invasión del tejido conectivo subepitelial, con invasión linfovascular o es poco diferenciado (grado 3-4).	pT1b: Tumor con invasión vascular y/o perineural o es de ALGO GRADO (G3 o sarcomatoide).
pT2: Invasión de cuerpo esponjoso o cavernoso.	pT2: El tumor invade el cuerpo esponjoso (glande o tallo ventral) con o sin invasión de la uretra.
pT3: Invasión de la uretra.	pT3: El tumor invade el cuerpo cavernoso (incluyendo la túnica albugínea) con o sin invasión de la uretra.
pT4: Invasión de estructuras adyacentes.	pT4: El tumor invade estructuras adyacentes (escroto, próstata, hueso púbico)

**Bibliografía**

1. Chauv A, Velazquez EF, Algaba F, et al. Developments in the Pathology of Penile Squamous Cell Carcinomas Urology 2010, 76 (Suppl 2A): S7–S14.
2. Chauv 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 Surg Pathol. 2009; 33: 1049-1057.
3. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter V. *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs.* (International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 2016)

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 Surg Pathol*. 2001;9(2):111-120.
5. Amin, M.B., Edge, S., Greene, F., et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8<sup>th</sup> ed. New York, NY: Springer; 2017.
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 *B J U Int* 2009; 103: 1660-1665.
9. Pizzocaro G, Algaba F, Horenblas S et al. EAU Penile cancer guidelines 2009. *Eur Urol* 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 (2013) Protocol for the Examination of Specimens from Patients With Carcinoma of the Penis. Disponible en <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/penis-13protocol-3200.pdf> (último acceso 1 de febrero de 2017)

# Protocolos de muestras de testículo

**Pilar González-Peramato<sup>1</sup>, Patricia Antúñez<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Hospital Universitario La Paz, UAM, Madrid

<sup>2</sup> Hospital Universitario de Salamanca.

## I. RECOMENDACIONES DE ENVÍO DE LA MUESTRA.

La **fijación de muestras de testículo** que lleguen a nuestros Servicios de Anatomía Patológica debe de ser distinta dependiendo de 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 del 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 neoplasia de células germinales in situ (GCNIS)* 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*.

Los **datos clínicos requeridos en la hoja de petición** serán, además de los identificativos del paciente, otros relevantes de la historia clínica, como lateralidad, tipo de muestra, datos analíticos ( $\beta$ -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... Resaltando otros factores de riesgo epidemiológicos como criptorquidia, Síndrome de Klinefelter, antecedentes familiares de cáncer de testículo en familiares de primer grado, presencia de tumor contralateral con neoplasia germinal in-situ (GCNIS) o infertilidad (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.

Además, los niveles en suero de gonadotropina coriónica humana ( $\beta$ -HCG),  $\alpha$ -fetoproteína (AFP) y lactato deshidrogenasa (LDH) son necesarios para la asignación del estadiaje patológico dentro de la categoría S. Se compararán inmediatamente después de la orquiectomía para determinar la caída o perseverancia de los mismos (que implicaría enfermedad residual).

Las referencias de imagen mediante TAC o RMN nos ayudan a la evaluación nodal, debiendo especificar el tamaño y localización de los ganglios anormales (Categoría N).

## II. ESTUDIO MACROSCÓPICO

### PIEZAS DE ORQUIECTOMÍA

#### 1. ORQUIECTOMÍA RADICAL.

a) 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 bien la pieza.

Siempre se procederá a:

- Medir el testículo en tres 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. No es imprescindible teñir la pieza quirúrgica. El 62% de los miembros de la ENUP, según la revisión de estudio macroscópico de testículo de 2015 no usan tinta, y los que la usan sólo emplean un color.
- Abrir la túnica vaginal por la 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.

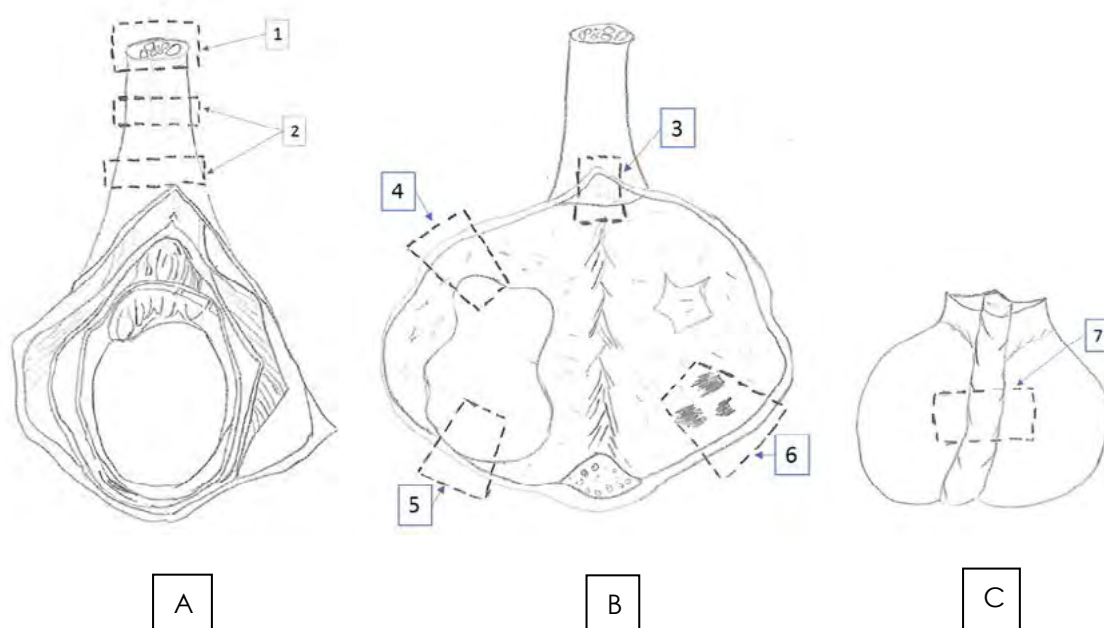
b) En la **descripción macroscópica** deberán constar los siguientes datos:

- 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 del tumor (midiendo sus tres dimensiones máximas). El tamaño tumoral (>4cm) es un factor predictivo independiente de recidiva a los 5 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.

c) **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 talleo de orquiectomías radicales por tumor según esquema de trabajo. (Modificado de William H et al, 2003):**

- A. Apertura por cara anterior de la túnica vaginal, que pone de manifiesto el testículo y el epidídimo.
- Toma de **bloque/s 1** del margen quirúrgico de cordón espermático.
  - **Bloque/s 2** También podemos incluir alguna sección más del cordón (medial).
- B. Tras abrirlo sagitalmente realizaremos toma de diversas secciones que incluyen:
- **Bloque/s 3.** Se incluirá también un bloque de la base del cordón para determinar si hay invasión microscópica o más dependiendo del estudio macroscópico.
  - **Bloque/s 4.** Relación del tumor con testículo normal próximo y cortes de parénquima no tumoral (para determinar la presencia/ausencia de GCNIS, atrofia, calidad de la espermatogénesis y otros datos de disgenesia testicular).
  - **Bloque/s 5.** Cortes del tumor en su relación con albugínea (en su zona más sospechosa de infiltración).
  - **Bloque/s 6.** Se incluirán varios bloques del tumor, que sean representativos de las distintas zonas macroscópicas que configuran la neoplasia. El número de bloques se realiza de modo subjetivo en la mayor parte de los casos, pero siempre de modo proporcional al tamaño tumoral y a la heterogeneidad del mismo.
- Los tumores de 2 cm o menos se incluyen en su totalidad.
- Los tumores mayores se muestrean generalmente con uno o dos bloques por cm de diámetro máximo. Siempre habrá que añadir una mayor selección del tejido dependiendo del volu-

men y heterogeneidad tumoral, y su relación o no con otras estructuras, con un mínimo de seis bloques.

Los seminomas se deben muestrear de modo minucioso en la búsqueda de componente no seminomatoso que cambie el manejo del paciente (en seminomas grandes se recomienda al menos 10 bloques).

Si en la sección encontramos únicamente una cicatriz, probablemente el tumor ha regresado (tumor quemado), y debemos incluirlo íntegramente para descartar la posibilidad de que existan zonas de tumor infiltrante o GCNIS.

La invasión vascular es más frecuente en la periferia del tumor (muestrearla ampliamente).

- C. **Bloque/s 7.** 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.

## 2. 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.

## BIOPSIAS TESTICULARES

### *Biopsia testicular por infertilidad o testículo contralateral para diagnóstico de GCNIS*

- 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, que 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

La 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 la tipificación histológica de los tumores testiculares es la de la WHO 2016. 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.
- La mayoría de los cambios en la clasificación WHO 2016 de los tumores testiculares se refieren a clasificación de los tumores de células germinales (Tabla 1). Las principales modificaciones se relacionan a continuación.
  - Es una clasificación patogenética de los tumores de células germinales establecida según deriven o no de la lesión precursora denominada ahora "Neoplasia de células germinales in situ" (GCNIS), antes denominada "neoplasia intratubular de células germinales, de tipo inclasificado" y en su descripción inicial "carcinoma in situ".
  - Los tumores de células germinales se separan en dos grandes grupos, los derivados de la neoplasia precursora in situ y los que no derivan de ella. Los primeros aparecen en edad postpuberal y los segundos en su mayoría en edad prepuberal, aunque se reconoce que pueden encontrarse teratomas de tipo prepuberal que se presenten en testículos postpuberales.
  - No se requiere informar de la madurez o inmadurez de los tejidos en los teratomas de tipo postpuberal ya que carece de valor pronóstico. Los teratomas de tipo postpuberal (independientemente de que sean puros o de la madurez de sus tejidos) pueden desarrollar metástasis como teratoma o como cualquier otro tipo de tumor de células germinales que derive de GCNIS y por tanto se consideran tumores de células germinales malignos. Sin embargo, se recomienda indicar la presencia de elementos neuroectodérmicos primitivos, aunque no está claro el valor pronóstico de un pequeño foco de estos elementos.
  - Los teratomas de tipo prepuberal aparecen predominantemente en pacientes prepuberales. Además de carecer de asociación con GCNIS, tienen una arquitectura más organoide, carecen de atipia significativa y en su inmensa mayoría no tienen amplificación 12p. La distinción es importante ya que estos teratomas de tipo prepuberal no metastatizan. Esta categoría incluye ahora al quiste epidermoide, quiste dermoide y tumores neuroendocrinos bien diferenciados (tumor carcinoide).
  - El espectro de tumores trofoblásticos se ha expandido aceptando entidades semejantes a las ginecológicas (tumor del lecho placentario, tumor trofoblástico epiteloide y tumor trofoblástico quístico)
  - Se ha adoptado también el término de "**tumor espermatocítico**" para sustituir al de "seminoma espermatocítico" y así evitar la confusión por la denominación de "seminoma", destacando que no tienen relación con el seminoma clásico. Con el término "tumor" se refleja la escasa agresividad que tienen estos tumores que excepcionalmente metastatizan salvo que tengan dediferenciación sarcomatosa.
  - No se requiere informar de la anaplasia en seminoma ni en tumor espermatocítico, ya que no se ha demostrado su importancia pronostica.
- En caso de tumores de células germinales: informar de la presencia de uno (puro) o mas 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 maligna** que consiste en sobrecrecimiento de carcinoma, sarcoma o PNET en el teratoma en al menos un campo de pequeño aumento (4X) o 5mm. El sobrecrecimiento de carcinoma se caracteriza por un crecimiento infiltrante.

**Tabla 1. Clasificación WHO 2016 de tumores testiculares de células germinales**

<p><b>Tumores de células germinales (TCG)</b></p> <p><b>TCG derivados de neoplasia de células germinales in situ</b></p> <p><i>Neoplasias de células germinales no infiltrantes</i></p> <p>Neoplasia de células germinales in situ</p> <p>Neoplasia de células germinales intratubular (seminoma, carcinoma embrionario...)</p> <p><i>Neoplasias de células germinales infiltrantes</i></p> <p><b>Tumores de un tipo histológico (tumores puros)</b></p> <p>Seminoma</p> <p>Seminoma con células de sincitiotrofoblasto</p> <p>Tumores de células germinales no seminomatosos</p> <p>Carcinoma embrionario</p> <p>Tumor del saco vitelino de tipo postpuberal</p> <p>Teratoma de tipo postpuberal</p> <p>Teratoma con transformación somática maligna</p> <p>Tumores trofoblásticos:</p> <p>Coriocarcinoma</p> <p>No coriocarcinomatosos:</p> <p>Tumor del lecho placentario</p> <p>Tumor trofoblástico epiteliode</p> <p>Tumor trofoblástico quístico</p> <p><b>TCG no seminomatosos de más de un tipo histológico: TCG mixtos</b> (aunque predomine seminoma)</p> <p><i>TCG de tipo desconocido: TCG en regresión ("Tumor quemado")</i></p> <p><b>TCG NO relacionados con neoplasia de células germinales in situ</b></p> <p>Tumor espermatocítico</p> <p>Teratoma de tipo prepuberal</p> <p>Quiste dermoide</p> <p>Quiste epidermoide</p> <p>Tumor neuroendocrino bien diferenciado (teratoma monodérmico)</p> <p>Tumor mixto teratoma y tumor del saco vitelino tipo prepuberal</p> <p>Tumor del saco vitelino de tipo prepuberal</p>
---

En los tumores de cordones sexuales-estroma gonadal los cambios de la clasificación WHO 2016 (Tabla 2) son los siguientes:

- El tumor de células de Sertoli (TCS) esclerosante y TCS rico en lípidos desaparecen como entidades separadas, ahora se incluye en la categoría de TCS, NOS
- Sí se consideran como entidades diferentes el TCS de células grandes calcificantes (asociado al complejo de Carney) y la neoplasia intertubular hialinizante de células de Sertoli de células grandes (asociada al síndrome de Peutz-Jeghers).
- Las subcategorías de tumores de cordones sexuales / estroma gonadal "mixta" e "incompletamente diferenciada" se han reemplazado por "tumores de cordones sexuales/estroma mixto e inclasificable"
- Se incluyen nuevas categorías: "tumor estromal gonadal mioide" y "tejido gonadal indiferenciado", posible lesión precursora del gonadoblastoma.



**Tabla 2. Clasificación WHO 2016 de tumores testiculares de cordones sexuales-estroma gonadal**

<p><b>Tumores de cordones sexuales-estroma gonadal</b></p> <p><b>Tumores puros</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor de células de Leydig <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor de células de Leydig maligno</li> </ul> </li> <li>Tumor de células de Sertoli <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor de células de Sertoli maligno</li> <li>Tumor de células de Sertoli de células grandes calcificantes</li> <li>Neoplasia intratubular hialinizante de células grandes de Sertoli</li> </ul> </li> <li>Tumor de células de la granulosa <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor de células de la granulosa adulto</li> <li>Tumor de células de la granulosa juvenil</li> </ul> </li> <li>Tumores del grupo tecoma-fibroma</li> </ul> <p><b>Tumores cordones sexuales-estroma mixtos e inclasificables</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumores mixtos cordones sexuales-estroma</li> <li>Tumor cordones sexuales-estroma inclasificable</li> </ul>
<p><b>Tm con células germinales y elementos de cordones sexuales-estroma</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Gonadoblastoma</li> </ul>

- En la categoría de tumores misceláneos se han incluido: "xantogranuloma juvenil" y "hemangioma" (Tabla 3)

**Tabla 3. Clasificación WHO 2016 de tumores testiculares misceláneos y otros**

<p><b>Miscelánea de tumores testiculares</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumores de epitelio de tipo ovárico <ul style="list-style-type: none"> <li>Cistadenoma seroso</li> <li>Tumor seroso borderline</li> <li>Cistoadenocarcinoma seroso</li> <li>Cistadenoma mucinoso</li> <li>Tumor mucinoso borderline</li> <li>Cistadenocarcinoma mucinoso</li> <li>Adenocarcinoma endometriode</li> <li>Adenocarcinoma de células claras</li> <li>Tumor de Brenner</li> </ul> </li> <li>Xantogranuloma juvenil</li> <li>Hemangioma</li> </ul>
<p><b>Tumores hematológicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Linfoma B difuso de células grandes</li> <li>Linfoma folicular, NOS</li> <li>Linfoma extranodal de células NK/T, de tipo nasal</li> <li>Plasmocitoma</li> <li>Sarcoma mieloide</li> <li>Enfermedad de células dendríticas</li> </ul>
<p><b>Tumores de ductos colectores y rete testis</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Adenoma</li> <li>Adenocarcinoma</li> </ul>

- **Infiltración de la rete testis.** Es importante diferenciar la *infiltración pagetoide* del epitelio de la rete testis (generalmente por células de GCNIS) 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 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 8ª Edición de 2017 (Ver apartado IV)
- **Presencia de GCNIS:** Es importante constatar este dato. Su ausencia debe plantear el diagnóstico diferencial con otros tumores, especialmente tumor espermatocítico y tumor de células de Sertoli. También es de gran ayuda en el DD entre teratoma de tipo prepuberal (incluido el quiste dermoide) y teratoma de tipo postpuberal en pacientes adultos.
- **Otros datos en el tumor:** Presencia de células de sincitiotrofoblasto, necrosis, grado de regresión espontánea del tumor.
- **Lesiones en el parénquima testicular peritumoral** indicativos de disgenesia testicular (tubos con solo Sertoli, alteraciones de la espermatogénesis, microlitiasis, nódulos de células de Sertoli, cambios granulares de células de Sertoli...)
- **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 GCNIS**

- Presencia / ausencia de GCNIS, 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 GCNIS 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 no-seminomatoso vs tumor no germinal.

### **IV. CLASIFICACIÓN TNM (8ª EDICIÓN, 2017)**

En el comité americano del cáncer (AJCC) se estudiaron tres aspectos mal definidos y problemáticos que no quedaron lo suficientemente definidos en la 7ª edición (en las recomendaciones de 2014, tras el meeting de la Sociedad Internacional Americana de Patología Urológica). Éstos fueron:

- El **tamaño tumoral para el subestadiaje pT1**, evaluado rutinariamente por los oncólogos cuando se consideran tratamientos de radioterapia adyuvante o quimioterapia con carboplatino en el seminoma.

Se subclasifican en:

- **pT1a:** Tumor de tamaño < a 3cm.
- **pT1b:** Tumor de tamaño ≥ a 3cm.
- **Invasión de tejidos hiliares**, hallazgo relacionado con lesión de alto grado en tumores germinales no seminomatosos, confundido con frecuencia como infiltración de cordón espermático y subclasificado variablemente como pT1, pT2 o pT3.

Actualmente se considerará:

- **La invasión epididimaria** es considerada pT2 en lugar de pT1.
- **La invasión de tejidos blandos hiliares** (rete-testis) es considerada pT2.
- Las **categorías pT1 y pT2** no estaban consideradas desde el punto de vista histoanatómico como vías importantes de propagación o diseminación tumoral.
- Por otro lado, la **afectación discontinua del cordón espermático a modo de invasión vasculo-linfática** es considerada enfermedad M1.

Estos cambios se reflejan en la publicación de la 8ª Edición de la TNM en Diciembre de 2016 que se recogen en las Tablas 4-6 y Figura 2. Conjugando los datos de T, N,M de esta clasificación con los datos serológicos (Tabla 7) se establecen los grupos pronósticos (Tabla 8).

**Tabla 4. Estadio TNM 2017 relativo a tumor primario****DEFINICIÓN DE TUMOR PRIMARIO (T):****T CLÍNICA (cT):**

Categoría cT	Criterios cT
cTx	No se puede evaluar el tumor primario.
cT0	Sin evidencia de tumor primario
cTis	Neoplasia de células germinales in-situ (GCNIS).
cT4	El tumor invade escroto con o sin infiltración vásculo-linfática.

Nota: Excepto para Tis confirmado con biopsia y T4, la extensión del tumor primario es clasificada por orquiectomía radical. Tx debe ser usada para estadiaje clínico de otras categorías.

**T PATOLÓGICA (pT):**

Categoría pT	Criterios pT
pTx	No se puede evaluar el tumor primario.
pT0	Sin evidencia de tumor primario
pTis	Neoplasia de células germinales in-situ (GNCC).
pT1	Tumor limitado al testículo (incluyendo la invasión del rete-testis) sin invasión vásculo-linfática.
pT1a*	Tumor de tamaño < a 3 cm.
pT1b*	Tumor de tamaño ≥ 3 cm.
pT2	Tumor limitado al testículo (incluyendo la invasión de rete-testis) con invasión vásculo-linfática. o Tumor que invade los tejidos blandos del hilio o epidídimo o penetrando en la capa visceral mesotelial de la superficie externa de la túnica albugínea con o sin invasión vásculo-linfática.
pT3	Tumor invade el cordón espermático con o sin invasión vásculo-linfática.
pT4	Tumor invade el escroto con o sin invasión vásculo-linfática.

\* La subclasificación de pT1 se aplica sólo para seminomas

**Tabla 5. Estadio TNM 2017 relativo a ganglios linfáticos regionales**

**DEFINICIÓN DE GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES (N):**

**N CLÍNICA (cN):**

Categoría cN	Criterios cN
cNx	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
cN0	Sin evidencia de metástasis en los ganglios regionales.
cN1	Metástasis con un ganglio $\leq$ a 2cm. o Múltiples ganglios linfáticos, ninguno de más de 2cm.
cN2	Metástasis con un ganglio $>$ de 2cm., pero no mayor de 5cm. o Múltiples ganglios linfáticos, alguno $>$ a 2cm., pero no mayor de 5cm.
cN3	Metástasis con un ganglio $>$ de 5 cm.

**N PATOLÓGICA (pN):**

Categoría pN	Criterios pN
pNx	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
pN0	Sin evidencia de metástasis en los ganglios regionales.
pN1	Metástasis con un ganglio $\leq$ a 2cm. ó 5 ganglios positivos o menos, ninguno mayor a 2 cm.
pN2	Metástasis con un ganglio $>$ a 5 cm.; ó 5 más de 5 ganglios positivos, ninguno mayor a 5 cm.; ó evidencia de extensión tumoral extranodal.
pN3	Metástasis con un ganglio $>$ de 5 cm.

**Tabla 6. Estadio TNM 2017 relativo metástasis a distancia**

**DEFINICIÓN DE METÁSTASIS A DISTANCIA (M):**

Categoría M	Criterios M
M0	Sin metástasis a distancia.
M1	Metástasis a distancia.
M1a	No afectación a ganglios retroperitoneales ó metástasis pulmonares.
M1b	Sin metástasis viscerales ganglionares.

**Tabla 7. Estadio TNM 2017 relativo marcadores serológicos****DEFINICIÓN DE MARCADORES SEROLÓGICOS (S):**

Categoría S	Criterios S
Sx	Marcadores no disponibles o no realizados.
S0	Marcadores dentro de los niveles normales.
S1	LDH < 1.5 x N* y $\beta$ -Hcg (mIU/ml) 5,000 y AFP (ng/ml) < 1,000
S2	LDH < 1.5-10 x N* ó $\beta$ -Hcg (mIU/ml) 5,000-50,000 ó AFP (ng/ml) 1,000-10,000
S3	LDH > 10 x N* ó $\beta$ -Hcg (mIU/ml) >50,000 ó AFP (ng/ml) > 10,000

\*N indica el límite superior o normal para LDH.

**Tabla 8. Grupos pronósticos según AJCC 2017.**

Cuando T es...	Y N es...	Y M es...	Y S es...	EL ESTADIO PRONÓSTICO ES...
pTis	N0	M0	S0	0
pT1-T4	N0	M0	SX	I
pT1	N0	M0	S0	IA
pT2	N0	M0	S0	IB
pT3	N0	M0	S0	IB
pT4	N0	M0	S0	IB
Cualquier pT/Tx	N0	M0	S1-3	IS
Cualquier pT/Tx	N1-3	M0	SX	II
Cualquier pT/Tx	N1	M0	S0	IIA
Cualquier pT/Tx	N1	M0	S1	IIA
Cualquier pT/Tx	N2	M0	S0	IIB
Cualquier pT/Tx	N2	M0	S1	IIB
Cualquier pT/Tx	N3	M0	S0	IIC
Cualquier pT/Tx	N3	M0	S1	IIC
Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1	SX	III
Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S0	IIIA
Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S1	IIIA
Cualquier pT/Tx	N1-3	M0	S2	IIIB
Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S2	IIIB
Cualquier pT/Tx	N1-3	M0	S3	IIIC
Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S3	IIIC
Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1b	Cualquier S	IIIC

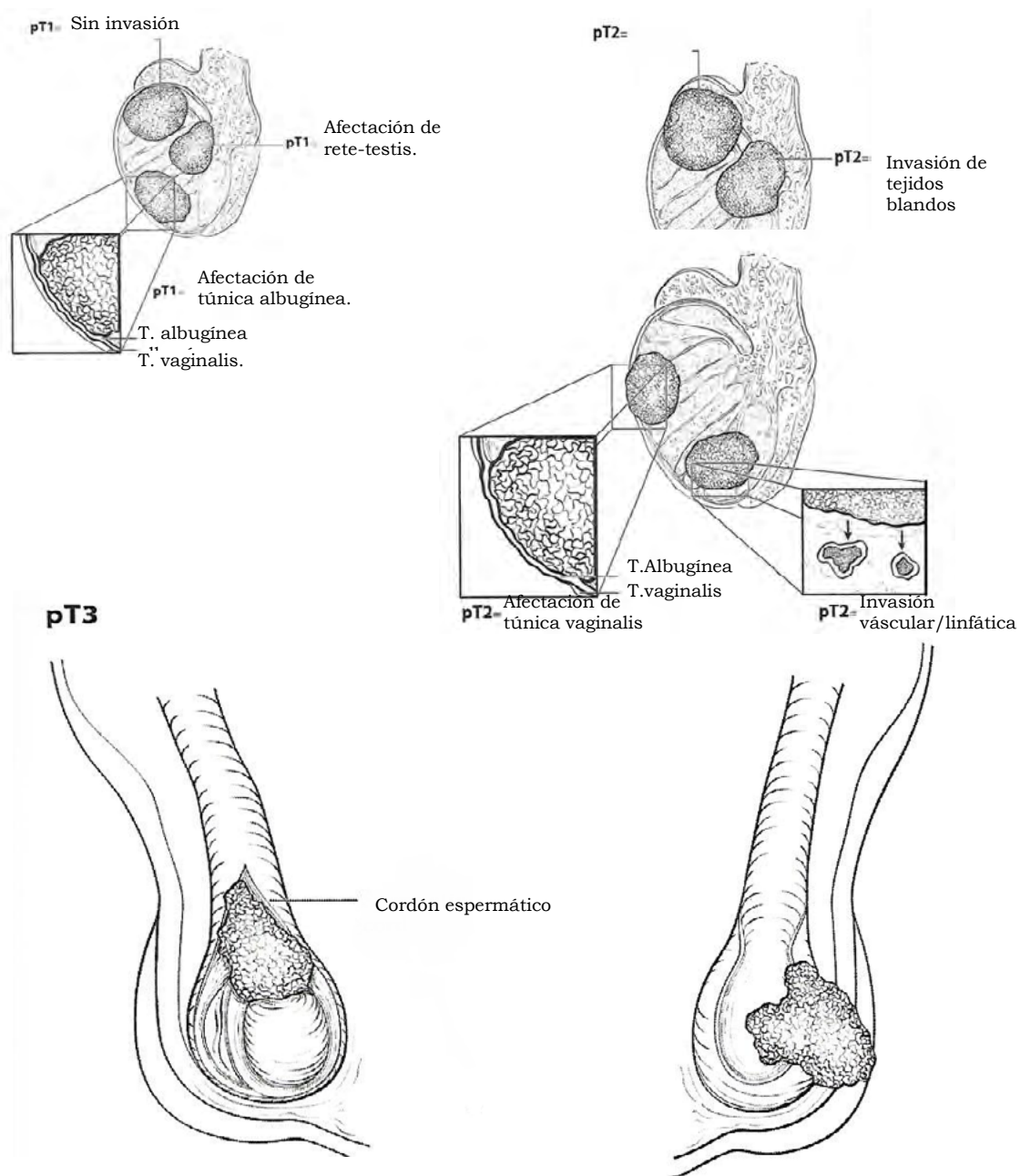


Fig. 2. Ilustraciones tomadas del Manual AJJ Cancer Staging. (8ª Edición)

## V. INFORME (DATOS QUE DEBEN FIGURAR EN EL INFORME):

### *Piezas de orquiectomía por tumor*

- Tipo de de pieza: (orquiectomía radical o parcial)
- Lateralidad
- Focalidad (unifocal o multifocal)
- Diámetro máximo del tumor
- Tipo/subtipos histológico de tumor según clasificación WHO 2016 (Tablas 1-3)
- Porcentaje de tipos tumorales en todos los tumores de células germinales mixtos
- Presencia o ausencia de invasión directa del tumor a las estructuras:
  - estroma de la rete testis
  - epidídimo
  - tejidos blandos / adiposo del hilio
  - cordón espermático
  - albugínea
  - vaginal testicular
  - pared escrotal
- Invasión linfovascular (linfática y/o venosa). 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 NCGIS
- Estadio pT según TNM 2016 (Tabla 2)
- Otros datos: Infiltración pagetoide de la rete testis por NCGIS, 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 NCGIS.

### *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.

## VI. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS / MOLECULARES

### *a. 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 NCGIS, 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.
  - Beta-catenina: en diagnóstico de tumores de células de Sertoli
  - Marcadores específicos de otras neoplasias: linfoides, PSA, fosfatasa ácida prostática, EMA (raramente + en tumores germinales),...

**b. 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. Berney DM, Algaba F, Amin M, Delahunt B, Compérat E, Epstein JI, Humphrey P, Idrees M, Lopez-Beltran A, Magi-Galluzzi C, Mikuz G, Montironi R, Oliva E, Srigley J, Reuter VE, Trpkov K, Ulbright TM, Varma M, Verrill C, Young RH, Zhou M, Egevad L20. Handling and reporting of orchidectomy specimens with testicular cancer: areas of consensus and variation among 25 experts and 225 European pathologists. *Histopathology*. 2015;67:313-24.
4. 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.
5. Morey AF, MacDonald MF, Rozanski TA, Natarajan S, Thompson IM. Yield and efficacy of biopsy gun testis needle biopsy. *Urology*. 1999;53:604-7.
6. Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Tumors of the Testis, Adnexa, Spermatic Cord, and Scrotum Vol., Armed Forces Institute of Pathology: Washington DC, 1999.
7. William H. Westra, Ralph H. Hruban, Timothy H. Phelps and Christina Isacson. Surgical Pathology Dissection. An Illustrated Guide. Second Edition. 2003.
8. Lester S. Manual Surgical Pathology 3rd. Edition. Expert Consult.
9. 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.

10. Emerson RE, Ulbright TM: Morphological approach to tumours of the testis and paratestis. *J Clin Pathol.* 2007; 60: 866-880.
11. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE eds. World Health Organization classification of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARC Press, 2016.
12. Idrees MT, Ulbright TM, Oliva E, Young RH, Montironi R, Egevad L, Berney D, Srigley JR, Epstein JI, Tickoo SK; Members of the International Society of Urological Pathology Testicular Tumour Panel. The World Health Organization 2016 classification of testicular non-germ cell tumours: a review and update from the International Society of Urological Pathology Testis Consultation Panel. *Histopathology.* 2016 Nov 1. doi: 10.1111/his.13115. [Epub ahead of print]
13. Williamson SR, Delahunt B, Magi-Galluzzi C, Algaba F, Egevad L, Ulbright TM, Tickoo SK, Srigley JR, Epstein JI, Berney DM; Members of the ISUP Testicular Tumour Panel. The World Health Organization 2016 classification of testicular germ cell tumours: a review and update from the International Society of Urological Pathology Testis Consultation Panel. *Histopathology.* 2017;70:335-346.
14. Ye H, Ulbright TM.: Difficult differential diagnoses in testicular pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2012; 136: 435-46.
15. Brimo F, Srigley JR, Ryan CJ, Choyke PL, Humphrey PA, Barocas DA et al. Testis TNM Classification of Malignant Tumours in AJCC Cancer Staging Manual, 8th Edition. Springer. 2016.
16. Berney DM. Staging and classification of testicular tumours: pitfalls from macroscopy to diagnosis. *J Clin Pathol.* 2008; 61 : 20-24.
17. Berney DM1. Update on testis tumours. *Pathology.* 2012; 44: 419-426.
18. Groll RJ, Warde P, Jewett MA. A comprehensive systematic review of testicular germ cell tumor surveillance. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;64:182–197.
19. 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.
20. 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.
21. Dunphy CH, Ayala AG, Swanson DA, Ro JY, Logothesis C. Clinical stage I nonseminomatous and mixed germ cell tumors of the testis. A clinicopathologic study of 93 patients on a surveillance protocol after orchiectomy alone. *Cancer* 1988;62:1202–1206.
22. 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.
23. Elert A, Olbert P, Hegele A, Barth P, Hofmann R, Heidenreich A. Accuracy of frozen section examination of testicular tumors of uncertain origin. *Eur Urol.* 2002;41:290-3.

24. 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.
25. 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.
26. 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.



# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE GESTIÓN APLICADA Y CALIDAD DE LA SEAP

*Coordinador: Antonio Martínez Lorente (amlorente@vinaloposalud.com)*



# Directrices para la estimación de la carga de trabajo en citopatología e histopatología (tiempo médico) atendiendo al catálogo de muestras y procedimientos de la SEAP-IAP. (2ª edición)

Elaborado por el Club de Gestión Aplicada y Calidad de la SEAP-IAP

Coordinador:

**Antonio Martínez Lorente.** *Hospitales Universitarios de Torrevieja y Elche-Vinalopó.*

Grupo de trabajo:

**Alameda Quitllet, Francesc.** *Hospital del Mar. Barcelona*

**Álvarez Alegret, Ramiro.** *Hospital Miguel Servet, Zaragoza*

**Carrasco García, Miguel Ángel.** *Hospital General de Catalunya, Sant Cugat del Vallès*

**Cremades Mira, Antonio.** *Hospital Universitario de la Ribera, Alzira. Valencia*

**De Álava Casado, Enrique.** *Hospital Universitario Virgen del Rocío., Sevilla*

**De Torres Ramírez, Inés.** *Hospital Universitario Vall D'Hebrón. Barcelona*

**Domínguez Franjo, Purificación.** *Hospital Ramón y Cajal, Madrid*

**Durán García, Rafael.** *Hospital Universitario Virgen de la Salud, Elda. Alicante*

**García del Moral, Raimundo.** *Complejo Universitario, Granada*

**García Rojo, Marcial.** *Hospital de Jerez de la Frontera. Cádiz*

**García Sánchez, Sagrario.** *Hospital Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes. Madrid*

**Granados Carreño, Rosario.** *Hospital Universitario de Getafe. Madrid*

**Guerra Merino, Isabel.** *Hospital Universitario Araba, Vitoria-Gasteiz*

**Martínez Onsurbe, Pilar.** *Hospital Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares. Madrid*

**Mate Sanz, José Luis.** *Hospital Universitario Trias i Pujol, Badalona*

**Pinedo, Fernando.** *Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid*

**Ribas Ariño, Teresa.** *Hospital de León.*

**Roselló Sastre, Esther.** *Hospital General de Castellón*

**Ruiz Díaz, Irune.** *Hospital Universitario Donostia, San Sebastián*

**Salas Villar, Isabel.** *Hospital Universitario. Puerta de Hierro, Madrid*

**Sánchez del Charco, Matilde.** *Hospital de Antequera, Málaga*

**Torres Nieto, Ángeles.** *Hospital del Río Hortega, Valladolid*  
**Sanfeliu Torres, Esther.** *Centro Médico Teknon. Barcelona*  
**Vicandi Plaza, Blanca.** *Hospital La Paz, Madrid.*  
**Vélez Velázquez, M<sup>a</sup> Dolores.** *Hospital Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares. Madrid*

Versión: 4  
 Elaboración: Febrero 2016- Marzo 2017  
 Fecha publicación: Mayo 2017. Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España.  
 Comentarios: Las directrices aprobadas en este documento corresponden al acuerdo consensuado de los miembros expertos constituyentes del grupo de trabajo del Club de Gestión Aplicada y Calidad de la SEAP-IAP.

La distribución se hizo atendiendo al conocimiento y experiencia en las distintas áreas y utilizando como referencia dos documentos matrices: *Guidelines on staffing and workload for histopathology and cytopathology departments (4th edition). The Royal College of Pathologists* y el *Catálogo de Muestras y Procedimientos de Anatomía Patológica (Suplemento del Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España de 2011)*.

## Índice

Introducción.....	623
Objetivos de las directrices.....	624
Método de trabajo para la realización de la segunda edición de las Directrices.....	624
Catálogo de muestras y procedimientos de Anatomía Patológica.....	625
Análisis prospectivo de la carga de trabajo asistencial. Carga de trabajo asociada a la actividad pre-analítica, analítica y post-analítica contemplando el tiempo médico. Adaptación a la norma UNE-EN-ISO 15189. ....	625
Cálculo de la carga de trabajo en citopatología e histopatología contemplando el tiempo médico.....	627
Distribución de la carga de trabajo en histopatología .....	627
Distribución de la carga de trabajo en citopatología.....	628
Distribución de la carga de trabajo en patología autópsica.....	628
Bibliografía.....	628
Anexo 1: Distribución de la carga de trabajo para histopatología .....	630
Anexo 2: Distribución de la carga de trabajo para citopatología .....	652
Anexo 3: Distribución de la carga de trabajo para patología autópsica .....	661



## Introducción

En nuestra especialidad, tal vez uno de los requerimientos no resueltos con eficacia y de manera mayoritaria, sea la distribución de la carga de trabajo. Sin duda, en estos momentos, resulta necesario abordar este problema tanto por el incremento de nuevas técnicas como por la escasez de profesionales que se producen en nuestro entorno. La carga de trabajo es, en sí misma, un elemento de tensión para nuestros Servicios porque está directamente relacionada con los tiempos de respuesta y las líneas de tratamiento que actúan, a través de los pacientes, ejerciendo presión sobre los profesionales de Anatomía Patológica.

La SEAP siempre ha prestado una especial atención a este tema. Ya los Dres Ana Alonso Fernández Aceituno y Félix Manzarbeitia<sup>1</sup> formaron parte como especialistas en Anatomía Patológica del Proyecto SIGNO promovido por el Ministerio de Sanidad y Consumo en 1994. Propusieron entonces tres niveles de actuación: a) definir un catálogo (estudios, muestras, técnicas) asociado a criterios de valoración de costes a través de Unidades Relativas de Valor (URL); b) establecer las bases para el desarrollo de sistemas de información específicos para Anatomía Patológica, c) desarrollar una guía básica de gestión del Servicio y establecer criterios y niveles de homologación.

En los años siguientes, y desde la certera orientación del Dr. José Antonio Giménez Más y el Club de Gestión Aplicada y Calidad, se acometieron diversos proyectos que incluían aquellos niveles de actuación de SIGNO. Pero como era muy necesario adaptar la carga laboral a la realidad de nuestros centros, en 2011 se edita el suplemento al Libro Blanco y en el artículo *Gestión de los Servicios de Anatomía Patológica*<sup>2</sup> un grupo numeroso de compañeros, liderados por Giménez Más, dejan sentadas las bases que son el fundamento de las directrices que hoy presentamos.

El objetivo de este documento es ayudar a los Servicios y Departamentos de Anatomía Patológica a lograr niveles de dotación de personal adecuados a su carga de trabajo, carga que va a repercutir directamente en la calidad de sus informes. Uno de los requerimientos dictados por la norma UNE-EN ISO15189 es la revisión del desempeño del personal (5.1.7) en donde se debe asegurar las necesidades, tanto del laboratorio como del individuo, con la finalidad de mantener la calidad del servicio prestado a los usuarios y fomentar las relaciones de trabajo productivas<sup>3</sup>. Pero previamente debemos ponernos de acuerdo respecto a cuál es el peso de la carga asistencial. El rico debate mantenido en el grupo de trabajo nos llevó a considerar que la carga asistencial debería representar entre el 75-80% del tiempo de trabajo, siendo el 20-25% restante el distribuido entre docencia, asistencia a comités clínicos, formación continuada, investigación y la participación en programas de calidad. Esta distribución está fundamentada en disposiciones legales emanadas del Estatuto Jurídico del Personal Médico (Orden de 4 de julio de 1972, art. 67) y la desigual interpretación que hacen la distintas Comunidades Autónomas en sus mesas sectoriales. Resulta, en estos momentos, necesario plantear esta situación y abrir un debate franco, porque tal vez sea este uno de los nodos de nuestra profesión y si llegamos a un acuerdo entre nosotros y las gerencias y direcciones, habremos normalizado la realidad de nuestras jornadas de laborales.

Una última consideración: en este grupo de trabajo puede reconocerse a patólogos con una avalada trayectoria profesional y a una amplia distribución geográfica de centros. A Servicios dotados con todas las técnicas y otros limitados por su tamaño, a Departamentos con docencia y a otros sin ella, en definitiva, una representación más que significativa de la realidad de nuestros centros de trabajo en el entorno social, político y cultural que nos ha tocado vivir. Todos los profesionales de este grupo han dado lo mejor de sí mismos para concluir estas directrices. El único objetivo ha sido actualizar el trabajo anterior y ser objeto de revisiones periódicas.

1 Perez Gómez AJ, Alcántara Fernández L, Pérez Mateos,C, Prieto Hierro,I (coordinador). «Hacia un Club de Anatomía Patológica. Proyecto SIGNO.» *Subdirección General de Sistemas de Gestión Analítica y Costes*. (INSALUD. Ministerio de Sanidad y Consumo), 1994.

2 Giménez Más, JA et col. *Gestión de los Servicios de Anatomía Patológica*. Suplemento Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España, 2011.

3 *Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia (ISO 15189:2012)*.

### Objetivos de las directrices

La segunda edición de las Directrices para la estimación de la carga de trabajo en citopatología e histopatología (tiempo médico), atendiendo al catálogo de muestras y procedimientos de la SEAP-IAP, recoge los objetivos propuestos en la primera edición de 2011 y los ampliaron con unos supuestos concretos:

1. Apoyar a los Servicios y Departamentos de Anatomía Patológica para equilibrar la dotación de profesionales acorde a la carga de trabajo prevista.
2. Contribuir a la distribución equitativa de la carga en cualquier Servicio o Departamento de Anatomía Patológica con cualquier grado de subespecialización.
3. Actuar como garante para que se preste un servicio sostenible y de alta calidad en beneficio de los pacientes.
4. Facilitar la distribución equitativa del trabajo entre patólogos dentro de un mismo centro. Proporcionar información para la planificación del trabajo y dotar a los patólogos de un mecanismo de cálculo que asegure que la carga de trabajo en una jornada laboral es razonable, segura, posible y nunca excesiva. Es de interés general reducir los errores relacionados con la sobrecarga.
5. Constituir una herramienta de trabajo útil para la gestión gerencial y directiva en predicción de los cambios en la demanda.
6. La guía utiliza un sistema de puntos para indicar intervalos de tiempo dentro de los cuales cada espécimen ha sido catalogado en base a grados de complejidad.
7. Los puntos de carga de trabajo se asignan prospectivamente según el tipo de espécimen. La reasignación retrospectiva de puntos sólo debe hacerse en circunstancias excepcionales.
8. Los puntos de la carga han sido asignados al trabajo macroscópico con descripción, disección y selección de bloque; al trabajo microscópico que implica la gestión de todos los procedimientos y técnicas conducentes a la producción de un informe y entendiendo que todo este proceso corresponde a "tiempo médico".
9. Otros aspectos relacionados con la actividad laboral como asistencia a comités clínicos, formación continuada, investigación y participación en programa de calidad no están cubiertos por el sistema de puntos
10. Es aconsejable que el sistema de gestión de información del laboratorio (LIS) permita el registro de la carga de trabajo, lo que facilitará el cálculo de la carga total del Servicio o Departamento.
11. Debido a la constante evolución de la práctica médica y quirúrgica, cabe esperar que estas directrices sean objeto de revisión periódica.

### Método de trabajo para la realización de la segunda edición de las Directrices.

El grupo de trabajo se constituye a iniciativa del Club de Gestión Aplicada y Calidad de la SEAP-IAP en la reunión de primavera de 2016. Como elementos para el debate, se utilizan los datos del Servicio de Anatomía Patológica de los Hospitales Universitarios de Torre Vieja y Elche-Vinalopó que en mayo de 2014 incorporó a su programa de gestión de laboratorio todo el catálogo y procedimientos publicados por la SEAP en 2011. Tras el análisis, se propone la creación de un grupo de trabajo que revise lo establecido en 2011 y utilice como referencia *Guidelines on staffing and workload for histopathology and cytopathology departments (4th edition)*. *The Royal College of Pathologists*.

Durante este tiempo el grupo de trabajo ha mantenido otras dos reuniones coincidiendo con las convocatorias de cursos de la SEAP de verano de 2016 y primavera de 2017. En ellas se ha intercambiado y discutido el trabajo hecho por cada subgrupo respecto a las áreas de análisis encomendadas. Los subgrupos crearon vías de comunicación entre ellos (teléfono, email, whatsapps...) y trasladaban sus conclusiones al coordinador. Hay que tener en cuenta que todas las conclusiones han sido tomadas por consenso, y que la composición de este grupo es una muestra significativa, de profesionales y centros de trabajo, y representativa de la realidad de nuestro entorno.

### Catálogo de muestras y procedimientos de Anatomía Patológica

Tal como quedaba reflejado en el suplemento del Libro Blanco de 2011<sup>4</sup>, fue a finales de los años noventa<sup>5</sup>, y tras dos revisiones del catálogo propuesto por el proyecto SIGNO II, cuando la SEAP acometió la transformación al catálogo actual. Se pasó de una catalogación por niveles, a la catalogación por detalle de cada una de las muestras y procedimientos. Pero, tal como se dijo en su inicio, este catálogo constituye un requisito básico que debe ser actualizado de una forma casi permanente y ser presentado de un modo accesible para su uso cotidiano a través de los sistemas de información. Con este mandato acometemos el proyecto de esta segunda edición con el siguiente esquema ( anexos 1, 2 y 3):

- A. Se mantienen tres **Categorías** primarias de muestras (concepto equivalente a espécimen) y una categoría primaria de **Procedimientos** ( asimilable al de técnica, método o ambos):
  - I. Autopsias: 9 tipos (T)
  - II. Biopsias: 14 grupos de procedencia topográfica (T)
  - III. Citologías: 14 grupos de procedencia topográfica (T)
  - IV. Procedimientos agrupados en 6 tipos distintos (T)
- B. A cada T se le asigna un número variable de tipos de **Espécimen** (muestras) o tipos de Estudio (procedimientos).
- C. Se establece la codificación: Categoría-Tipo-Espécimen que facilite su identificación en el sistema de información.
- D. Tanto las muestras como los procedimientos se codifican según la clasificación SNOMED-CT aproximando la terminología en la medida de lo posible. La limitación de SNOMED-CT para aceptar topografías combinadas obliga a registrar con dos códigos aquellas que lo requieran (p.e. mastectomía+ disección axilar).
- E. Hemos aplicado un principio de simplificación para facilitar las búsquedas y el análisis comparativo y así una muestra o procedimiento sólo puede ser codificada de una única manera.

### Análisis prospectivo de la carga de trabajo asistencial. Carga de trabajo asociada a la actividad pre-analítica, analítica y post-analítica contemplando el tiempo médico. Adaptación a la norma UNE-EN ISO 15189.

Uno de los tantos aciertos de nuestros predecesores fue utilizar para el diseño de las recomendaciones recursos que ya estaban disponibles. *The Royal College of Pathologists* tiene una trayectoria de evaluación del tiempo de trabajo en Patología iniciada en 1992, a la que hizo su primera revisión en 1999 y, a fecha de hoy, son cuatro las ediciones de sus *Guidelines on staffing and workload for histopathology and cytopathology departments*.

Para el grupo de expertos del *Royal College of Pathologists* la carga de trabajo, medida en tiempo médico, debe ir asociada a un espécimen o muestra y cada uno de ellos tiene una distribución en tiempo vinculada a su complejidad: a cada intervalo de tiempo queda asociado un sistema de puntos con carácter creciente. En su segunda edición 1 punto equivale a 6 minutos y los especímenes fueron asignados a cuatro categorías de complejidad:

- Baja: 1 punto
- Media: 3 puntos
- Alta: 5 puntos
- Muy alta: 10 puntos

Los puntos se presentaron como matrices bidimensionales para macro y microscopia lo que limitaba, por otro lado, la flexibilidad de asignación a los distintos apartados. Este mismo criterio fue el seguido por el

4 Giménez Más, JA et col. *Gestión de los Servicios de Anatomía Patológica*. Suplemento Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España, 2011

5 Martínez-Tello, FJ. «Objetivos de la Anatomía Patológica. Cartera de Servicios.» *Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España (primer suplemento)* (SEAP), 1999: 86-93.

catálogo de la SEAP-IAP publicado en el Suplemento de 2011, con una particularidad: considerar la unidad de tiempo 10 minutos.

Posteriormente nuestros colegas del *Royal College of Pathologists* modifican, a partir de la 3ª edición, la asignación de las puntuaciones, pasando de la matriz bidimensional a columnas simples de tipos de muestras con descripción macro y microscópica. El grupo de expertos tomó la decisión de asignar la carga de trabajo de los especímenes a intervalos de minutos, lo que requirió un sistema de puntos modificado:

- 1-5 minutos: 1 punto
- 6-10 minutos: 2 puntos
- 11-20 minutos: 3 puntos
- 21-30 minutos: 5 puntos
- 31-50 minutos: 8 puntos
- > 50 minutos: 12 puntos.

Además, es importante tener en cuenta que la carga laboral o de trabajo, es la suma de los minutos empleados para cada espécimen, es decir, cada contenedor tiene su propia puntuación y un caso clínico será la suma de todos los especímenes que lo compongan.

Llegados a este punto es necesario poner atención en que la carga de trabajo debe tener un carácter prospectivo: el valor de la asignación prospectiva ha sido consensuado en nuestro grupo de trabajo y es, en sí mismo, un dato transparente, universal y creíble, tanto para patólogos como para la dirección y la gerencia. Por tanto, la reasignación retrospectiva de puntos sólo debe hacerse en circunstancias excepcionales tales como error en la catalogación de la muestra, del procedimiento o ante resultados no esperados que requieran nuevas determinaciones una vez se ha completado el informe.

Por último, debemos considerar que el tiempo médico tiene dos picos de incidencia en la fase analítica: el tiempo dedicado a la descripción macroscópica y el dedicado a la microscopía y a la confección del informe. Pero cuando hablamos de "tiempo médico" deberíamos limitarlo al empleado con cada uno de los procedimientos para la conclusión en un informe diagnóstico: este tiempo debemos considerarlo como el tiempo de carga asistencial y debe representar entre el 75 y el 80% del tiempo de trabajo. El propio *Royal College of Pathologists* contempla dos tiempos distintos en el tiempo médico y aunque no lo pondera, nosotros consideramos que el 20-25% que resta está distribuido entre docencia, asistencia a comités clínicos, formación continuada, investigación y la participación en programas de calidad.

El antecedente legislativo al que referir esta afirmación proviene del Estatuto Jurídico del Personal Médico (Orden de 4 de julio de 1972, art. 67) donde dice que la jornada del personal médico es de 36 horas semanales elevando el número de horas a 42 si se desarrolla investigación o docencia. Por otro lado, las Comunidades Autónomas ofrecen una desigual interpretación de este mismo concepto dependiendo de los resultados de negociación en sus mesas sectoriales.

Desde el Club de Gestión Aplicada y Calidad entendemos que es un buen momento para abordar este debate, porque la realidad de carga creciente en nuestras jornadas laborales no sólo está asociada al exclusivo trabajo de redactar informes de biopsias, citologías y autopsias, sino a la cada vez mayor responsabilidad que nos vemos obligados a asumir por nuestro rol de patólogos. En este orden de cosas, un nuevo requerimiento que nos vamos a ver obligados a adoptar es la normalización de nuestro trabajo a través de UNE-EN ISO15189. En el capítulo referido al desempeño de personal (5.1.7) y con la finalidad de *mantener la calidad del servicio prestado a los usuarios y fomentar las relaciones de trabajo productivas, se debe asegurar las necesidades, tanto del laboratorio como del individuo*<sup>6</sup>. Estas necesidades que marca la ISO15189 van a estar directamente relacionadas con la calidad final de nuestro trabajo, sin identificar el límite entre asistencial o no asistencial.

---

6 *Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia (ISO 15189:2012).*

### **Cálculo de la carga de trabajo en citopatología e histopatología contemplando el tiempo médico.**

Otro de los objetivos del grupo de trabajo era disponer de un sistema homologado, objetivo y universalmente aceptado respecto a la carga de trabajo para todo el ámbito de influencia de nuestra Sociedad Científica. Si bien la cuantificación del trabajo respecto a las unidades de biopsias, citologías y autopsias, ha sido la manera de medir la actividad de un Servicio o Departamento, en estos momentos ya no nos sirve. Ya en los años noventa el proyecto SIGNO (II), propone medir el trabajo a través de las unidades relativas de valor (URV), pero tampoco funcionó. Tal vez, una de las razones fue por su carácter economicista, ya que el objetivo era normalizar la factura interna en un análisis de costes que permitiera elaborar un presupuesto. Y dos grandes críticas se vertieron sobre estas URV. Por un lado, que la gestión económica de los Servicios quedaba fuera del alcance de los profesionales (aunque no estuviera fuera de su influencia) y, por otro, el insuficiente desarrollo de los sistemas informáticos de aquellos tiempos<sup>7</sup>.

La SEAP en un compromiso constante por vertebrar con procedimientos que permitiesen la comparación entre Servicios, publica en el Libro Blanco de 1997 y en el suplemento de 1999 un catálogo de muestras y procedimientos simplificado y conceptualiza la carga laboral como *una actividad profesional desprovista de gastos fungibles asociados que el patólogo desempeña para alcanzar el objetivo final del diagnóstico expresada en tiempo o equivalente*.

Es la segunda edición del *Royal College of Pathologists*, y la publicación por aquellos años del Catálogo de procedimientos diagnósticos en Anatomía Patológica, editado por la Generalitat Valenciana que mutó el valor económico de las URV a valor tiempo. Esta nueva manera de medir fue ampliamente aceptada ya que venía del consenso entre un grupo de patólogos y su aceptación por parte de una administración pública. Las biopsias se clasificaron de Tipo I, II, III, IV y V y los tiempos asignados fueron 20-40-60-80-120 minutos.

En este recorrido por nuestros antecedentes, debemos rescatar una figura esencial para el cálculo: el factor MU. Este factor permite convertir las UCL a minutos y se fijó en 10 para mantener el paralelismo con lo pactado en la Comunidad Valenciana en el año 2000. El factor MU representa la carga media laboral que soporta un Servicio y, de acuerdo a este dato, valores por debajo de 10 expresarían sobrecarga, y más sobrecarga cuanto más alejados se encuentre de la decena. Dado que el factor MU está directamente relacionado con el tiempo médico, su valor permite planificar los recursos profesionales y ser una herramienta de gestión de cara a la dirección y la gerencia. Pero dos son las consideraciones, además, que debemos de tener en cuenta:

- Que es el tiempo médico el que marca el valor final del factor MU: se considera, por cálculos realistas y por consenso, **6 minutos el tiempo por unidad** (tal como consideraba en su segunda edición The Royal College of Pathologists).
- Que el tiempo médico hay que asimilarlo a **tiempo asistencial**, esto es, el 75-80% del tiempo de una jornada laboral.

Como ejemplo, podemos considerar un Servicio que tiene un convenio en el que se contemplan 1.826 horas anuales, lo que supone 109.560 minutos. Tal como hemos dicho, el tiempo asistencial representa el 75% del tiempo de trabajo, por tanto se disponen de 82.170 minutos o de 13.695 UCL (UCL = 6 minutos) para el desarrollo de un trabajo sin sobrecarga. El número de profesionales médicos en cada unidad de Anatomía Patológica resultará de la división de las UCL totales del Servicio y las 13.695 UCL que debe desarrollar cada patólogo.

### **Distribución de la carga de trabajo en histopatología**

En este apartado debemos de tener en cuenta:

- Cada grupo de expertos adoptó el criterio adecuado para incluir o excluir procedimientos respecto al catálogo de 2011.

<sup>7</sup> Giménez Más, JA et col. *Gestión de los Servicios de Anatomía Patológica*. Suplemento Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España, 2011

- El grupo de trabajo consideró adecuado distribuir la carga en diagnóstico macro y microscópico. Con esta separación quedaría recogida el volumen de carga que pueden realizar departamentos que tienen docencia o unidades en donde el tallado es realizado por un profesional distinto al que emite el informe final. En aquellos Servicios en que el mismo patólogo realice toda la actividad, no hay más que contemplar la carga total.

En este orden de cosas se ha considerado, tal como lo hace *The Royal College of Pathologists* que aquellos casos que tan solo conlleva traspasar la muestra del contenedor a la cápsula, y no requieren descripción macroscópica, el tiempo de macro es cero. En aquellos casos que con este criterio sí se contempla tiempo macro son, nuevamente excepciones, contempladas por el grupo de expertos de cada subespecialidad.

- Se incorpora el diagnóstico molecular y la microscopia electrónica como un elemento más de carga de trabajo y se hace, en esta segunda edición, en aquellas patologías en las que para llegar a una conclusión diagnóstica es necesaria esta área de conocimiento. Sin embargo, el criterio de *\*Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro*, debe quedar abierto y ser utilizado a medida que este complemento vaya incorporándose para la conclusión de un informe. Hay que tener en cuenta que en estos casos la reasignación de la carga se hará de manera retrospectiva, siendo la excepción a la regla antes expuesta.

#### **Distribución de la carga de trabajo en citopatología**

En este apartado se han tenido las siguientes consideraciones:

- Citopatología exfoliativa: Se han asignado a la mayoría de las muestras 2 puntos.
- Improntas: Se asignan 2 puntos.
- PAAF: Todas se puntúan inicialmente con 3 puntos si no hay intervención del patólogo y las muestras son enviadas al Servicio. Se añadirán 2 puntos más cuando el patólogo interviene, o bien realizando la PAAF o asistiendo en la práctica intervencionista para realizar el ROSE (*Rapid on-site evaluation*). Las punciones de órganos por EBUS/EUS con ROSE tendrán 8 puntos.

Cuando se realicen estudios IHQ/ Moleculares en cualquier tipo de muestra citológica se añadirán 3 puntos.

Un criterio no menor a tener en cuenta es contemplar, a efectos de carga laboral, la determinación de HPV (3 puntos) dado el enorme volumen de peticiones que debemos realizar y el trabajo de integrar el resultado en su informe clínico.

#### **Distribución de la carga de trabajo en patología autopsica**

Respecto a la autopsia se han incorporado los procedimientos de autopsia parcial (tórax o abdomen), de SNC y de SNC para biobanco y ajustando los tiempos a los procedimientos respecto a 2011.

#### **Bibliografía**

1. Blas J, Fernandez Izquierdo A, Gómez A, Trigueros M, Vera F. *Catálogo de procedimientos diagnóstico en Anatomía Patológica*. Generalitat Valenciana, 2000.
2. COMITÉ EUROPEO DE NORMALIZACIÓN. *Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia (ISO 15189:2012)*. Madrid: AENOR, 2013, 1-61.
3. Giménez Más JA et col. *Gestión de los Servicios de Anatomía Patológica*. Suplemento Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España, 2011.
4. Martínez-Tello FJ. «Objetivos de la Anatomía Patológica. Cartera de Servicios.» *Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España (primer suplemento)* (SEAP), 1999: 86-93.

5. Perez Gómez AJ, Alcántara Fernández L, Pérez Mateos C, Prieto Hierro I (coordinador). «Hacia un Club de Anatomía Patológica. Proyecto SIGNO.» *Subdirección General de Ssistemas de Gestión Analítica y Costes*. (INSALUD. Ministerio de Sanidad y Consumo), 1994.
6. Zarbo RJ, Nakheleh RE. «Surgical Pathology Specimens for Gross Examination Only and Exempt From Submission.» *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 1999; 123 : 133-139.
7. Sánchez Fernández de la Vega, J. «¿Son válidos los sistemas tipo unidades Relativas de Valor para la gestión de Unidades funcionales anatomopatológicas?» *Patología* 98; 31, nº 3.
8. SEAP. *Suplemento del Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España*. Sociedad Española de Anatomía Patológica, 2011.
9. The Royal College of Pathologists. «Guidelines of staffing and workload for histopathology and cytopathology departments (4th edition).» The Royal College of Pathologists, 2014.



**ANEXO 1: DISTRIBUCIÓN DE LA CARGA DE TRABAJO PARA HISTOPATOLOGÍA**

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

Catálogo de muestras de anatomía patológica codificado en SNOMED CT

Basado en SNOMED CT Internacional versión 2016-01-31. Actualizado el 18 de abril de 2017

**BIOPSIAS**

		<b>CATÁLOGO 2017</b>			
		<b>MICRO</b>	<b>MACRO</b>	<b>BIOMOL</b>	<b>TOTAL</b>
<b>DERMATOPATOLOGÍA</b>	<b>SNOMED CT</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>
<b>Biopsia de piel</b>	<b>119325001</b>				
Cilindro de piel (para lesión, no inflamatorio)	309504008	1			1
Cilindro de piel para melanoma (habitualmente lentigo maligno)	309504008:118168003=2092003	3			3
Cilindro de biopsia de piel genital (pene o vulva)	309504008:118169006=281679005	3			3
Cilindro piel inflamatoria	309504008:118168003=23583003	3			3
Cilindro alopecia (secciones horizontales y verticales (caso completo)	309504008:118171006=129173004	8	1		9
Cilindro de linfoma cutáneo*	309504008:118168003=21964009	8		5	8(13)
Afeitado de lesión tumoral (no inflamatorio)	396483002	1			1
Curetaje de lesión tumoral	309067007	1			1
Biopsia por incisión (tumoral)	309505009:118168003=108369006	1			1
Biopsia por incisión (inflamatoria)	309505009:118168003=23583003	3			3
Biopsia por incisión (linfoma)*	309505009:118168003=21964009	8		5	8(13)
Enucleación de lesión cutánea (ej:quistes)	309068002	1			1
Biopsia de uña	119327009	3			3
Biopsia escisional simple de lesión benigna	309506005	1	1		2
Biopsia escisional de nevus displásico	309506005:118168003=61814002	3	1		4
Biopsia escisional de carcinoma	309506005:118168003=68453008	3	1		4
Biopsia escisional de piezas orientadas (localizaciones anatómicas de riesgo alto (labios, nariz, periocular,...))	396355000:118171006=371735007	5	3		8
Biopsia escisional de melanoma	309506005:118168003=2092003	5	1		6
Biopsia escisional de linfoma*	309506005:118168003=21964009	8		5	8(13)
Estudios especiales (IFD, Genotipo, Citometría,...)	309066003:118171006=108262000	5			5
Cirugía de Mohs intraoperatoria (Primer pase)	309506005:118171006=397833007	5	3		8
Cirugía de Mohs intraoperatoria (Pases adicionales)	309506005:118171006=65139003	5	3		8
Resección cutánea amplia	396354001	5	3		8

\* Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro



**BIOPSIAS**

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
APARATO DIGESTIVO	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de esófago</b>	<b>127464006</b>				
Biopsia endoscópica de esófago	127464006:118171006=71658001	2			2
Biopsia por incisión de esófago	122628006	1	1		2
Biopsia por escisión de esófago (ej: polipectomía)	122629003	3	2		5
Resección endoscópica submucosa de esófago	127464006:118171006=426105008	3	3		6
Esofaguetomía parcial	122630008:118171006=3980006	3	3		6
Esofaguetomía total	122630008:118171006=14072009	8	8		16
Esofagogastrectomía	122631007	8	8		16
<b>Biopsia de estómago</b>	<b>128171007</b>			<b>5</b>	
Biopsia endoscópica de estómago	128171007:118171006=10077008	2		*	2
Biopsia por incisión de estómago	122632000	1	1	*	2
Biopsia por escisión de estómago (ej: polipectomía)	122633005	3	2	*	5
Resección endoscópica submucosa de estómago	128171007:118171006=425494001	3	3	*	6
Gastrectomía parcial	122635003	3	3	*	6
Gastrectomía total	122634004	3	3	*	6
Gastrectomía total con linfadenectomía	122634004+399649002	8	8	*	16
<b>Biopsia de intestino delgado</b>	<b>122638001</b>			<b>5</b>	
Biopsia endoscópica de intestino delgado	122638001:118171006=39686002	2		*	2
Biopsia por incisión de intestino delgado	122638001:118171006=70871006	1	1	*	2
Biopsia por escisión de intestino delgado (ej: polipectomía)	397053005	3	2	*	5
Resección endoscópica submucosa de intestino delgado	122638001:118171006=426889002	3	3	*	6
Resección parcial de intestino delgado	397055003	3	3	*	6
Resección total de intestino delgado	309220004:118171006=90856004	3	3	*	6
Resección de intestino delgado con linfadenectomía	309220004+399649002	8	8	*	16
Gastroduodenectomía total	122634004:118171006=287809004	8	8	*	16
<b>Biopsia de intestino grueso</b>	<b>122643008</b>			<b>5</b>	
Biopsia endoscópica de intestino grueso	122643008:118171006=80050006	2		*	2
Biopsia por incisión de intestino grueso	122644002	1	1	*	2
Biopsia por escisión de intestino grueso (ej: polipectomía)	122645001	3	2	*	5

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
APARATO DIGESTIVO	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
Resección endoscópica submucosa de intestino grueso	122643008:118171006=426066009	3	3	*	6
Resección parcial de intestino grueso (no tumoral)	309488006	3	3	*	6
Resección de recto (no tumoral)	309264007	3	3	*	6
Resección total de intestino grueso (no tumoral)	122647009	5	5	*	10
Resección de intestino grueso con linfadenectomía (tumoral)	122643008+399649002	8	12	*	20
Resección de recto (Resección anterior baja) (Tumoral)	309264007 +399649002	8	12	*	20
Resección abdominoperineal de intestino grueso	122646000	8	12	*	20
Biopsia de apéndice ileocecal	421615004	1	1	*	2
<b>Biopsia de ano</b>	<b>128156008</b>				
Biopsia por incisión de ano	128156008:118171006=70871006	1	1		2
Biopsia por escisión de ano	399731009	3	2		5
Extirpación de ano	309267000	5	3		8
<b>Biopsia de vesícula biliar</b>	<b>122656001</b>				
Biopsia por incisión de vesícula biliar	369616003:118171006=70871006	1	1		2
Pieza de vesícula biliar	309205005	1	1		2
Pieza de vesícula biliar y hepatectomía parcial	369617007	2	2		4
Cálculo biliar	258492001	1			1
<b>Biopsia de ampolla de Vater</b>	<b>127468009</b>				
Biopsia por incisión de ampolla de Vater	122657005	1	1		2
Extirpación de ampolla de Vater	122658000	5	2		7
<b>Biopsia de vía biliar extrahepática</b>	<b>399541005</b>				
Biopsia por incisión de vía biliar	309493009:118171006=70871006	3	1		4
Extirpación de vía biliar	397483006	3	2		5
<b>Biopsia de hígado</b>	<b>128168004</b>				
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de hígado	309203003:118171006=303588003	8			8
Biopsia por incisión (en cuña) de hígado	438659007	3	1		4
Biopsia por escisión de hígado	439034006	5	5		10
Hepatectomía parcial (lobectomía o segmentectomía)	128168004:118171006=71273005	8	5		13
Hepatectomía total	396481000	8	5		13
<b>Biopsia de páncreas</b>	<b>127470000</b>				

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
APARATO DIGESTIVO	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de páncreas	309206006	5			5
Biopsia por incisión de páncreas	122667000	3	1		4
Biopsia por escisión de páncreas	415563002	3	3		6
Pancreatectomía parcial	122661004	5	5		10
Pancreatectomía Whipple	122665008	8	12		20
	SNOMED CT				
<b>Biopsia de mesenterio</b>	<b>432146008</b>	<b>2</b>			<b>2</b>
Biopsia de epiplon	309495002	1	1		2
Biopsia por incisión de epiplon	309208007:118171006=70871006	2	1		3
Biopsia por escisión de epiplon	309208007:118171006=11291002	2	1		3
Omentectomía	309496001	2	2		4
<b>Biopsia de peritoneo</b>	<b>309207002</b>		<b>1</b>		<b>1</b>
Biopsia por incisión de peritoneo (ej. Saco herniario)	309207002:118171006=70871006	2	1		3
Biopsia por escisión de peritoneo	309207002:118171006=120177005	2	1		3
<b>Biopsia de retroperitoneo</b>	<b>438803004</b>	<b>2</b>			<b>2</b>
** Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro					

**BIOPSIAS**

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
PATOLOGÍA ENDOCRINA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de glándula tiroidea</b>	<b>127478007</b>				
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de tiroides	432984003:118171006=86716004	1	3		4
Biopsia por escisión de tiroides (nódulo tidoideo)	309144007:118171006=359916003	2	5		7
Tiroidectomía parcial (lobectomía) (no neoplásica)	122732007	3	3		6
Tiroidectomía subtotal o total (neoplásica)	399622002	5	3	5	8(13)
Tiroidectomía total con linfadenectomía	399622002+399649002	5	5	5	10(15)
<b>Biopsia de paratiroides</b>	<b>309150002</b>				
Biopsia por incisión de paratiroides	309151003:118171006=70871006	1	3		4
Paratiroidectomía (1 glándula)	309153000	2	2		4
Escisión por recurrencia/metástasis	309153000:118168003=108369006	3	1		4
<b>Biopsia de glándula suprarrenal</b>	<b>303247002</b>				
Biopsia por incisión de suprarrenal	309142006:118171006=70871006	3	1		4
Suprarrenalectomía (no neoplásica)	309143001	3	1		4
Suprarrenalectomía (neoplásica)	309143001:118168003=108369006	5	3		8
** Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro					

**BIOPSIAS**

		<b>CATÁLOGO 2017</b>		
		<b>MICRO</b>	<b>MACRO</b>	<b>TOTAL</b>
<b>PATOLOGÍA GINECOLÓGICA</b>	<b>SNOMED CT</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>
<b>Biopsia de vulva</b>	<b>399486006</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de vulva	369618002:118171006=68660007	2		2
Biopsia por incisión de vulva	369618002:118171006=70871006	3		3
Biopsia por escisión de vulva	397130007	3	1	4
Vulvectomía parcial	397132004	5	5	10
Vulvectomía total	397133009	8	5	13
Vulvectomía total con linfadenectomía	397134003	8	8	16
<b>Biopsia de vagina</b>	<b>128175003</b>			
Biopsia por incisión de vagina	122691009	2		2
Biopsia por escisión de vagina	122692002	2		2
Vaginectomía	122693007	5	3	8
<b>Biopsia de cérvix uterino</b>	<b>127481002</b>			
Biopsia por incisión de cérvix	122698003	2		2
Biopsia por escisión de cérvix (e.j. pólipo)	309286008	1	1	2
Biopsia por conización de cérvix	399713008	3	2	5
Biopsia de endocervix (legrado)	16210491000119104	2		2
Amputación de cérvix	396273004	3	2	5
<b>Biopsia de endometrio</b>	<b>128163008</b>			
Producto de concepción	258428005	3	1	4
Biopsia por incisión de endometrio (legrado, aspiración)	122703009	2		2
Biopsia por escisión de endometrio (e.j. polipectomía)	309288009	2	1	3
<b>Biopsia de útero</b>	<b>127480001</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de útero	127480001:118171006=31797009	2		2
Biopsia por incisión de útero	432059003:118171006=116235006	2		2
Biopsia por escisión de útero (e.j. miomectomía)	432059003:118171006=449727003	2	2	4
Histerectomía simple	309501000	3	2	5
Histerectomía y anexectomía unilateral	309500004	3	8	11
Histerectomía y doble anexectomía	309287004	3	8	11
Histerectomía radical con linfadenectomía	122696004	8	8	16
<b>Biopsia de ovario</b>	<b>127482009</b>			
Biopsia incisional de ovario	122709008	3	1	4
Biopsia de quiste ovárico	309291009	3	1	4
Ooforectomía	122710003	3	1	4

		CATÁLOGO 2017		
		MICRO	MACRO	TOTAL
PATOLOGÍA GINECOLÓGICA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL
Sapingo-ooforectomía	127482009:118171006=116028008	3	1	4
Resección de masa anejo uterino	122710003:118171006=236911001	8	8	16
Omentomía + biopsia peritoneo	309496001+309207002	2	2	4
<b>Biopsia de trompa uterina</b>	<b>127483004</b>			
Comprobación de trompas uterinas	122720008	1	1	2
Biopsia escisional de trompa uterina	127483004:118171006=116248005	3	1	4
Salpinguectomía total	127483004:118171006=300897007	2	2	4
<b>Biopsia de placenta</b>	<b>122736005</b>			
Membrana placentaria	258426009			
Placenta completa	122736005:118169006=181455002	3	3	6
<b>Feto o embrión como biopsia</b>	<b>309502007</b>			
Aborto	309502007:118169006=28677006	4		4
Feto 6-12 semanas (disección compleja, fotografía, seriación, etc.)	431234000		12	12

## BIOPSIAS

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
HEMATOPATOLOGÍA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de bazo</b>	<b>309077009</b>				
Biopsia de bazo	433760005	3	1		4
Esplenectomía (Linfoma)**	309077009:118168003=21964009	8	2	5	10 (15)
Esplenectomía (No Linfoma)	309077009:118171006=234319005	3	2		5
<b>Biopsia de ganglio linfático u otro órgano (linfoma)</b>	<b>309078004:118168003=21964009</b>				
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de ganglio linfático**	309079007:{118171006=29300007, 118168003=21964009}	8	1	5	9 (14)
Biopsia por incisión de ganglio linfático**	309079007:{118171006=445462001, 118168003=21964009}	8	2	5	10(15)
Biopsia por escisión de ganglio linfático**	397436009:118168003=21964009	8	2	5	10(15)
<b>Biopsia de ganglio linfático (No Linfoma)</b>	<b>309078004</b>				
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de ganglio linfático	309079007:118171006=29300007	3	1		4
Biopsia por escisión de ganglio linfático	397436009	3	1		4
Ganglio centinela*	441709004	5	1		6
Ganglio centinela (OSNA)*	441709004:118171006=69363007	1	1		2
Linfadenectomía regional	399649002	3	5		8
<b>Biopsia de médula ósea</b>	<b>396999004</b>	<b>8</b>			<b>8</b>
* Valores que se aplicarán por cada ganglio centinela					
**Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro					

**BIOPSIAS**

		CATÁLOGO 2017		
		MICRO	MACRO	TOTAL
PATOLOGÍA MAMARIA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de mama</b>	<b>127457009</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de mama	122737001	3		3
Biopsia por incisión de mama	122739003	3	2	5
Biopsia por escisión de mama (e.j. tumorectomía)	309546004	8	8	16
Ampliación de márgenes en mama	397199005:118171006=395165008	8	8	16
Mastectomía parcial (e.j. cuadrantectomía)	122598006	8	8	16
Mastectomía parcial y linfadenectomía	122597001	8	8	16
Mastectomía total	122595009	8	3	11
Mastectomía total y linfadenectomía	16211731000119101	8	8	16
Mamotomo	373102004	3		3
Mamoplastia + cicatriz	127457009:118171006=237406004	2	2	4



## BIOPSIAS

		CATÁLOGO 2017		
		MICRO	MACRO	TOTAL
PATOLOGÍA DE CABEZA Y CUELLO	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de diente</b>	<b>309187005</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>4</b>
<b>Biopsia de glándula salival</b>	<b>399645008</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru -cut) de glándula salival	399645008:118171006=56872007	2		2
Extirpación de glándula salival menor	309549006	2	1	3
Biopsia por incisión de glándula salival mayor	433119005	3		3
Biopsia por escisión de glándula salival mayor	399645008:118171006=234937001	3	1	4
Extirpación de glándula salival mayor	309190004	3	2	5
Parotidectomía	309484008	3	2	5
Extirpación de glándula submaxilar	309486005	3	2	5
Extirpación de glándula sublingual	309485009	3	2	5
<b>Biopsia de labio</b>	<b>309483002</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru -cut) de labio	309483002:118171006=68660007	2		2
Biopsia por incisión de labio	309483002:118171006=282367003	3		3
Biopsia por escisión de labio	16210411000119108	3	2	5
<b>Biopsia de lengua</b>	<b>309189008</b>			
Biopsia por incisión de lengua	309189008:118171006=282365006	3		3
Biopsia por escisión de lengua	309189008:118171006=359556005	5	5	10
<b>Biopsia de cavidad oral</b>	<b>309186001</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru -cut) de cavidad oral	309186001:118171006=68660007	2		2
Biopsia por incisión de mucosa oral	309186001:118171006=70871006	3		3
Biopsia por escisión de mucosa oral	309186001:118171006=8889005	3	1	4
Biopsia por incisión mandibular o maxilar	309186001:{118171006=70871006,118169006=181813003}	3	1	4
Biopsia por escisión mandibular o maxilar	309186001 :{118171006=8889005,118169006=181813003}	5	5	10

		CATÁLOGO 2017		
		MICRO	MACRO	TOTAL
PATOLOGÍA DE CABEZA Y CUELLO	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de hueso de la cara</b>	<b>258417006:118171006=448260007</b>	<b>Ver en Partes Blandas</b>		
Biopsia por incisión de hueso de la cara	258417006:118171006=178402007			
Biopsia por escisión de hueso de la cara	258417006:118171006=88009002			
Biopsia de hueso maxilar (superior)	258417006:118171006=239347007			
Biopsia de hueso mandibular	258417006:118171006=392147002			
	SNOMED CT			
<b>Biopsia de amígdala</b>	<b>309191000</b>			
Biopsia por incisión de amígdala	309191000:118171006=70871006	5		5
Amigdalectomía	309192007	1	1	2
<b>Biopsia de cávum</b>	<b>309180007</b>	<b>3</b>		<b>3</b>
<b>Biopsia de fosa nasal</b>	<b>432608000</b>	<b>3</b>		<b>3</b>
Biopsia por incisión de fosa nasal	432608000:118171006=70871006	2		2
Extirpación de pólipo nasal	309179009	1	1	2
<b>Biopsia de senos nasales y paranasales</b>	<b>433860001</b>	<b>2</b>		<b>2</b>
<b>Biopsia de faringe</b>	<b>309193002</b>	<b>2</b>		<b>2</b>
Biopsia de laringe	309182004			
Biopsia por incisión de laringe	309182004:118171006=70871006	3		3
Corpectomía	309184003	3	2	5
Laringuectomía	309183009	8	5	13
Linfadenectomía de cuello (Vaciamiento funcional o radical)	399649002:118171006=53103008	3	5	8
<b>Biopsia de oído</b>	<b>128162003</b>	<b>2</b>		<b>2</b>

**BIOPSIAS**

		CATÁLOGO 2017				
		MICRO	MACRO	BIOMOL	M/E	TOTAL
NEUROPATOLOGÍA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de hemisferios cerebrales*</b>	<b>128157004</b>					
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de cerebro (estereotaxia)	399728008	8	1	5		9(14)
Biopsia por incisión de cerebro	432139004	8	2	5		10(15)
Biopsia con resección parcial de lesión	399732002	8	3	5		11(16)
Biopsia por escisión de cerebro	399614009	8	3	5		11(16)
<b>Biopsia de cerebelo*</b>	<b>443498007</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>5</b>		<b>10(15)</b>
<b>Biopsia de tronco del encéfalo*</b>	<b>128157004:118169006=15926001</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>5</b>		<b>10(15)</b>
<b>Biopsia de hipófisis</b>	<b>309154006</b>	<b>5</b>	<b>1</b>			<b>6</b>
<b>Biopsia de glándula pineal</b>	<b>443241002</b>	<b>5</b>	<b>1</b>			<b>6</b>
<b>Biopsia de meninges (cerebro o espinal)</b>	<b>432145007</b>					
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de meninges	432145007:118171006=359988009	5	1			6
Biopsia por incisión de meninges	432145007:118171006=28304008	5	2			7
Biopsia por escisión de meninges	432145007:118171006=51031005	5	2			7
<b>Biopsia de médula espinal</b>	<b>431697001</b>					
Biopsia por esterotaxia de médula espinal	431697001:118171006=6778001	5	1			6
Biopsia por escisión de médula espinal	431697001:118171006=239875000	5	2			7
Biopsia de ganglio raquídeo	431697001:118171006=231033000	3	1			4
<b>Biopsia de nervio</b>	<b>309129006</b>					
Biopsia por incisión de nervio	309129006:118171006=287568002	8	2			10
Biopsia de nervio vago (p.ej. comprobación)	438542005	2	1			3

		CATÁLOGO 2017				
		MICRO	MACRO	BIOMOL	M/E	TOTAL
<b>NEUROPATOLOGÍA</b>	<b>SNOMED CT</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>
<b>Biopsia de ganglio simpático o parasimpático</b>	<b>433799002</b>					
Biopsia de ganglio nervioso simpático (e.j. comprobación)	430132004	2	1			3
<b>Biopsia músculo esquelético</b>	<b>432058006</b>	<b>12</b>	<b>3</b>		<b>5</b>	<b>15(20)</b>
*Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro						
** Las muestras que requieran estudios de microscopia electrónica deberán sumar 5 puntos al micro						

## BIOPSIAS

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
PATOLOGÍA OFTÁLMICA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de conjuntiva</b>	<b>128160006</b>				
Benigno no neoplásico ni inflamatorio	128160006:118168003=52988006	1	1		2
Benigno inflamatorio	128160006:118168003=708039003	3			3
Tumor benigno	128160006:118168003=3898006	2	3		5
Biopsia tumor maligno	128160006:{118171006=70871006,118168003=367651003}	3	1		4
Excisión tumor maligno	128160006:{118171006=8889005,118168003=367651003}	3			3
Linfoma conjuntival (Ver Hematopatología)	128160006:118168003=21964009				
Mapeo biopsia (1 bote)	128160006:118171006=287500007	3			3
Estudios especiales (Inmunofluorescencia, PCR...)	128160006:118171006=108262000	5			5
<b>Biopsia de córnea</b>	<b>128161005</b>				
Biopsia	128161005:118171006=70871006	2			2
Córnea compleja*	128161005:118171006=108143005	5	1	5	6(5)
Anillo corneal-escleral de donante	447403008	2	1		3
Estudios especiales (ME, PCR...)	128161005:118171006=108262000	8			8
<b>Biopsia de globo ocular</b>	<b>128164002</b>				
Exanteración	399443006	8			8
Enucleación no neoplásica	396928004	5	3		8
Enucleación neoplásica*	396928004:118168003=108369006	5	5	5	10(5)
Evisceración	128164002:118171006=373356002	5	1		6
Biopsia de órbita	128164002:118169006=363654007	5	1		6
Biopsia corio-retinal	399451009	5	1		6
Resección local tumor intraocular	128164002:118171006=8889005	5	2		7
<b>Biopsia de saco lagrimal</b>	<b>433324003:118169006=314802006</b>				
Biopsia de saco lagrimal (inflamatoria)	433324003:{118169006=314802006,118168003=708039003}	2	1		3
Biopsia de saco lagrimal (benigna)	433324003:{118169006=314802006,118168003=3898006}	3	1		4
Biopsia de saco lagrimal (maligna)	433324003:{118169006=314802006,118168003=367651003}	5	1		6

		<b>CATÁLOGO 2017</b>			
		<b>MICRO</b>	<b>MACRO</b>	<b>BIOMOL</b>	<b>TOTAL</b>
<b>PATOLOGÍA OFTÁLMICA</b>	<b>SNOMED CT</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>
<b>Biopsia de tejido trabecular</b>	<b>128164002:118169006=66731004</b>	<b>2</b>			<b>2</b>
<b>Biopsia de lens</b>	<b>258601009</b>	<b>2</b>	<b>1</b>		<b>3</b>
*Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro					

## BIOPSIAS

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
PATOLOGÍA DE PARTES BLANDAS, ARTICULACIÓN Y HUESO	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de partes blandas (incuye fascia)</b>	<b>309074002</b>			<b>5</b>	
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de partes blandas	309074002:118171006=9911007	5	1	*	6
Biopsia por incisión de partes blandas	309074002:118171006=70871006	5	1	*	6
Biopsia por escisión de partes blandas	440502004	5	2	*	7
Biopsia extirpación amplia partes blandas	309074002:118171006=56361007	8	5	*	13
Amputación de extremidad	408654003:118171006=400053006	12	8	*	20
<b>Biopsia de articulación</b>	<b>309124001</b>	<b>4</b>		<b>5</b>	
Biopsia no quirúrgica de articulación	309126004	2	1	*	3
Biopsia por escisión de articulación	309127008	2	1	*	3
Biopsia de tendón	309113003	1	1	*	2
Biopsia incisional de tendón	309113003:118171006=70871006	1	1	*	2
Biopsia por escisión de tendón	309108002	2	2	*	4
Biopsia de sinovial	309121009	2	1	*	3
Biopsia por incisión de sinovial	309122002:118171006=70871006	2	1	*	3
Biopsia por escisión de sinovial	309121009:118171006=388990007	2	2	*	4
Biopsia de bursa	309110000	1	1	*	2
Biopsia por incisión de bursa	178121006	1	1	*	2
Biopsia por escisión de bursa	309112008	1	1	*	2
<b>Biopsia de hueso</b>	<b>258417006</b>			<b>5</b>	
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de hueso	258417006:118171006=72771008	5	2	*	7
Biopsia por incisión de hueso	309105004	5	2	*	7
Biopsia por escisión simple de hueso (ej: exóstosis)	258417006:118171006=178919002	2	2	*	4
Biopsia por escisión amplia de hueso (ej: tumor maligno)	258417006:118171006=116014002	12	8	*	20
*Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro					

**BIOPSIAS**

		<b>CATÁLOGO 2017</b>			
		<b>MICRO</b>	<b>MACRO</b>	<b>BIOMOL</b>	<b>TOTAL</b>
<b>PATOLOGÍA RESPIRATORIA Y CAVIDAD TORÁCICA</b>	<b>SNOMED CT</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>
<b>Biopsia de tráquea</b>	<b>128173005</b>				
Biopsia endoscópica de tráquea	128173005:118171006=307822008	3	1		4
Biopsia por incisión de tráquea	309169007:118171006=70871006	3	1		4
Biopsia por escisión de tráquea (ej. Tumorectomía)	438352005	4	2		6
Resección de tráquea	128173005:118171006=40583006	5	2		7
<b>Biopsia de bronquio</b>	<b>128158009</b>				
Biopsia endoscópica de bronquio	309174004:118171006=274318008	3	1		4
Biopsia por incisión de bronquio	309174004:118171006=70871006	3	1		4
Biopsia por escisión de bronquio (ej. Polipectomía)	309174004:118171006=87101000	3	2		5
Resección de bronquio	128158009:118171006=119730004	3	2		5
<b>Biopsia de pulmón</b>	<b>399492000</b>			<b>5</b>	
Cilindro (punch, BAAG, tru -cut) de pulmón	122610009:118171006=43831007	3	1	*	4
Biopsia transbronquial de pulmón	309173005	3	1	*	4
Biopsia por incisión de pulmón (ej. Cuña)	384746001	5	2	*	7
Biopsia por escisión de pulmón	122610009:118171006=77648009	3	2	*	5
Resección segmentaria de pulmón	122605005	12	3	*	15
Lobectomía de pulmón	122606006	12	5	*	17
Neumonectomía total	122607002	12	5	*	17
Neumonectomía bilateral (trasplante)	440472000	5	5	*	10
<b>Biopsia de pleura</b>	<b>127460002</b>			<b>5</b>	
Cilindro (punch, BAAG, tru -cut) de pleura	122617007	3	1	*	4
Biopsia por incisión de pleura (toracoscopia)	122621000	3	2	*	5
Biopsia por escisión de pleura	309172000:118171006=278294002	3	3	*	6
Pleurectomía o decorticación	127461003	5	3	*	8



		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
PATOLOGÍA RESPIRATORIA Y CAVIDAD TORÁCICA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de mediastino</b>	<b>434014007</b>			<b>5</b>	
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de mediastino	434014007:118171006=70117004	3	1	*	4
Biopsia por incisión de mediastino (mediastinoscopia)	122613006	5	2	*	7
Biopsia por escisión de mediastino	434014007:118171006=43508000	5	3	*	8
<b>Biopsia de timo</b>	<b>399572009</b>			<b>5</b>	
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de timo	396902002	5	1	*	6
Biopsia por incisión de timo	399633004:118171006=70871006	5	2	*	7
Biopsia por escisión de timo	399633004:118171006=48382001	5	3	*	8
Timectomía	399572009:118171006=43450002	5	3	*	8
*Las muestras que precisen estudios moleculares deberán sumar 5 puntos al micro					

**BIOPSIAS**

		CATÁLOGO 2017		
		MICRO	MACRO	TOTAL
PATOLOGÍA CARDIOVASCULAR	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de arteria</b>	<b>432097003</b>			
Biopsia de contenido de arteria (p.ej. trombo, placa ateroma)	309479002	1	1	2
Biopsia de arteria temporal	309481000	2	1	3
Biopsia por escisión de arteria (p.ej. Aneurisma)	432097003:118171006=8889005	2	2	4
<b>Biopsia de vena</b>	<b>432061007</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
<b>Biopsia de corazón</b>	<b>128166000</b>			
Biopsia por incisión de corazón	122625009	2	1	3
Biopsia por escisión de corazón	122624008	2	1	3
Biopsia de válvula cardiaca (nativa o prótesis)	258542004	1	1	2
Corazón (trasplante)	128166000:118171006=32413006	8	8	16
Biopsia de pericardio	434250007	2	1	3
Biopsia de endocardio	119378002	2	1	3
Biopsia de miocarcidio	119377007	3	1	4

**BIOPSIAS**

		<b>CATÁLOGO 2017</b>		
		<b>MICRO</b>	<b>MACRO</b>	<b>TOTAL</b>
<b>UROLOGÍA</b>	<b>SNOMED CT</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>	<b>UCL</b>
<b>Biopsia de uréter</b>	<b>399624001</b>			
Biopsia por incisión de uréter	309271002	2		2
Biopsia por escisión de uréter	399624001:118171006=33570008	2	2	4
Ureterectomía	399407000	3	2	5
<b>Biopsia de vejiga</b>	<b>309272009</b>			
Biopsia por incisión de vejiga	309273004	2		2
Biopsia por escisión de vejiga	309272009:118171006=8889005	3		3
Resección transuretral de vejiga	309274005	3	1	4
Cistectomía parcial	122686008	3	3	6
Cistectomía total	122687004	8	3	11
Cistectomía radical	396685001	8	8	16
Cistoprostatectomía radical	122688009	8	8	16
<b>Biopsia de uretra</b>	<b>128174004</b>	<b>2</b>		<b>2</b>
<b>Biopsia de próstata</b>	<b>128170008</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de próstata	309134005	3		3
Resección transuretral de próstata	384820007	3	1	4
Biopsia por enucleación de próstata (adenomec-tomía)	122724004	3	2	5
Prostatectomía radical	122725003	8	8	16
<b>Biopsia de testículo</b>	<b>127475005</b>			
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de testículo	122729009	3		3
Biopsia por incisión de testículo	122730004	3	1	4
Biopsia por escisión de testículo	127475005:118171006=29865007	3	1	4
Orquiectomía (no neoplásica)	309138008	8	3	11
Orquiectomía (neoplásica)	309138008:118168003=108369006	2	2	4
<b>Biopsia de cubiertas testiculares</b>	<b>431413009</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>

		CATÁLOGO 2017		
		MICRO	MACRO	TOTAL
UROPATOLOGÍA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de epidídimo</b>	<b>431205006</b>			
Biopsia por incisión de epidídimo	431205006:118171006=70871006	1	1	2
Biopsia por escisión de epidídimo	431205006:118171006=8889005	5	2	7
<b>Biopsia de cordón espermático</b>	<b>433873002</b>			
Biopsia de conducto deferente (ej: compobación)	309139000	1		1
Biopsia por incisión de cordón espermático	433873002:118171006=70871006	1	1	2
Biopsia por escisión de cordón espermático	433873002:118171006=8889005	5	2	7
<b>Biopsia de vesículas seminales</b>	<b>433854001</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Biopsia de pene</b>	<b>128169007</b>			
Biopsia por incisión de pene	432142005	1	1	2
Biopsia por escisión de pene	128169007:118171006=44511009	5	3	8
Amputación de pene	128169007:118171006=80855002	5	5	10

## BIOPSIAS

		CATÁLOGO 2017			
		MICRO	MACRO	BIOMOL	TOTAL
NEFROPATOLOGÍA	SNOMED CT	UCL	UCL	UCL	UCL
<b>Biopsia de riñón</b>	<b>127474009</b>			<b>5</b>	
Cilindro (punch, BAAG, tru-cut) de riñón	122670001	12	1		13
Biopsia por incisión de riñón	122672009	12	1	*	13
Biopsia por escisión de riñón	309270001	3	1	*	4
Biopsia de trasplante renal	438804005	6	1		7
Nefrectomía parcial (neoplásica)	309498000	8	3		11
Nefrectomía total (neoplásica)	309497005:118168003=108369006	8	8		16
Nefrectomía no neoplásica	309497005	3	2		5
*Las muestras que necesiten estudios de microscopía electrónica deberán sumar 5 puntos al micro					

TOPOGRAFÍA DESCONOCIDA	SNOMED CT				
<b>Biopsia de topografía desconocida</b>	<b>431887008</b>				

**ANEXO 2: DISTRIBUCIÓN DE LA CARGA DE TRABAJO PARA CITOPATOLOGÍA**

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

Catálogo de muestras de anatomía patológica codificado en SNOMED CT

Basado en SNOMED CT Internacional versión 2016-01-31. Actualizado el 18 de abril de 2017

**CITOPATOLOGÍA EXFOLIATIVA, IMPRONTAS Y PAAF 48469005**

	SNOMED CT	CATÁLOGO 2017		
		UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>CITOPATOLOGÍA DE PIEL</b>				
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados de piel</b>	<b>110893002</b>			
Citología de raspado o frotis de piel	258503004	2		
Citología contenido de lesión de piel	309075001	2		
<b>Citología impronta de piel</b>				
Citología de piel (impronta)	110893002:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de piel</b>				
PAAF de piel	432134009	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA DEL APARATO DIGESTIVO</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados de aparato digestivo</b>				
Citología de esófago	110962002	3		
Citología de estómago	110936006	3		
Citología de ampolla de Vater	116155002	3		
Citología de vía biliar (pared)	110928002	3		
Citología de intestino delgado	110954005	3		
Citología de intestino grueso	116158000	3		
Citología de ano	110963007	3		
Citología ano. Determinación molecular de HPV	110963007:118171006=108262000			3
<b>Citología de líquidos o secreciones de aparato digestivo</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de contenido de vía biliar	119341000	3		
Citología de páncreas	119343002	3		
Citología de vesícula biliar	110926003	3		
Citología de líquido ascítico	431771004	3		
Citología de líquido de lavado peritoneal o Douglas	168139001	3		

	SNOMED CT	CATÁLOGO 2017		
		UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>Citología impronta de aparato digestivo</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de hígado (impronta)	309204009	2		
Citología de páncreas (impronta)	110929005	2		
Citología de mesenterio (impronta)	433322004:118171006=430854000	2		
Citología de epiplon (impronta)	433309007:118171006=430854000	2		
Citología de pared de peritoneo (impronta)	110944006	2		
Citología de retroperitoneo (impronta)	433323009:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de aparato digestivo</b>	<b>Espécimen</b>			
PAAF de esófago	122550002:118169006=32849002	3	8	
PAAF de estómago	432384008	3	8	
PAAF de ampolla de Vater	122550002:118169006=67109009	3	8	
PAAF de vía biliar (pared)	432098008	3	8	
PAAF de vesícula biliar	431884001	3	8	
PAAF de intestino delgado	432135005	3	8	
PAAF de intestino grueso	432864003	3	8	
PAAF de ano	122550002:118169006=53505006	3	5	
PAAF de hígado	433116003	3	5	
PAAF de páncreas	431406009	3	8	
PAAF de mesenterio	434140003	3	5	
PAAF de epiplon	122550002:118169006=27398004	3	5	
PAAF de peritoneo	432982004	3	5	
PAAF de retroperitoneo	433118002	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA ENDOCRINA</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología impronta de sistema endocrino</b>				
Citología de tiroides (impronta)	116162006			
Citología de paratiroides (impronta)	309149002:118171006=430854000			
Citología de suprarrenal (impronta)	309141004:118171006=430854000			
<b>PAAF de sistema endocrino</b>				
PAAF de tiroides	116161004	3	5	
PAAF con control ecográfico de tiroides	116161004:118171006=442865000	3	5	
PAAF de paratiroides	432141003	3	5	
PAAF de suprarrenal	396525008	3	5	

		CATÁLOGO 2017		
	SNOMED CT	UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>CITOPATOLOGÍA GINECOLÓGICA</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados ginecológica</b>				
Citología de vulva	110945007	2		
Citología de vagina	110947004	2		
Citología de cúpula vaginal	312494007	2		
Citología de ectocérvix. Toma única	110949001	2		
Citología de endocérvix. Toma única	110951002	2		
Citología de cérvix. Doble toma (ecto y endocérvix)	110949001:{118169006=28349006,118169006=36973007}	2		
Citología cervicovaginal. Doble toma	110953004	2		
Citología cervicovaginal. Triple toma	430387006	2		
Citología de endometrio	110955006	2		
Citología líquida de cérvix	430346005:118169006=71252005	2		
Determinación molecular de HPV	110949001:118171006=108262000			3
<b>Citología impronta ginecológica</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de trompa uterina (impronta)	110957003:118171006=430854000	2		
Citología de placenta (impronta)	110959000:118171006=430854000	2		
Citología de feto (impronta)	110968003:118171006=430854000	2		
Citología de útero (impronta)	127479004:118171006=430854000	2		
Citología de ovario (impronta, contenido)	116213003:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de aparato genital femenino</b>	<b>Espécimen</b>			
PAAF de vulva	432136006	3	5	
PAAF de útero	432060008	3	5	
PAAF de trompa uterina	431233006	3	5	
PAAF de ovario	431405008	3	5	
<b>CITHEMATOPATOLOGÍA</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología de sangre y tejido linfoide</b>				
Citología de médula ósea	110897001	2		
Citología de sangre periférica	122551003	2		
Citología de ganglio linfático homogeneizado	110898006	2		
<b>Citología impronta tejido linfoide</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de bazo (impronta)	433308004:118171006=430854000	2		
Citología de ganglio linfático (impronta)	258488008	2		
Citología de ganglio centinela (impronta)	441709004:118171006=430854000	2		



	SNOMED CT	CATÁLOGO 2017		
		UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>PAAF de tejido linfoide</b>				
PAAF de bazo	432383002	3	5	
PAAF de ganglio linfático	432382007	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA MAMARIA</b>				
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados de mama</b>				
Citología de piel de pezón de mama	110899003	2		
<b>Citología de líquidos o secreciones de mama</b>				
Citología de secreción pezón de mama	430309006	2		
Citología de líquido procedente de mama	309055005	2		
Citología de conducto mamario	309548003	2		
<b>Citología impronta de mama</b>				
Citología de mama (impronta)	309057002	2		
<b>PAAF de mama</b>				
PAAF de mama	309061008	3	5	
PAAF con control ecográfico de mama	309061008:118171006=432337008	3	5	
PAAF con control ecográfico de axila	309061008:118171006=431364006	3	5	
PAAF con control por resonancia de mama	309061008:118171006=432109009	3	5	
<b>PATOLOGÍA DE CABEZA Y CUELLO</b>				
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados de cabeza y cuello</b>				
Citología de labio	431058008	2		
Citología de boca	110925004	2		
Citología para corpúsculo de Barr	258564008	2		
Citología de lengua	430249001:118171006=116147009	2		
Citología de amígdala palatina	430222001:118171006=116147009	2		
Citología de cávum	110905003	2		
Citología de fosa nasal	110903005	2		
Citología de senos nasales y paranasales	110904004	2		
Citología de faringe	110934009	2		
Citología de laringe	110908001	2		
Citología de oído	430241003	2		
Determinación molecular de HPV	110925004:118171006=108262000			3

	SNOMED CT	CATÁLOGO 2017		
		UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>Citología de líquidos o secreciones de cabeza y cuello</b>				
Citología de glándulas salivales	110930000	2		
<b>Citología impronta cabeza y cuello</b>				
Citología de labio (impronta)	431058008:118171006=430854000	2		
Citología de boca (impronta)	110925004:118171006=430854000	2		
Citología de lengua (impronta)	430249001:118171006=430854000	2		
Citología de amígdala palatina (impronta)	430222001:118171006=430854000	2		
Citología de cávum (impronta)	110905003:118171006=430854000	2		
Citología de fosa nasal (impronta)	430245007:118171006=430854000	2		
Citología de senos nasales y paranasales (impronta)	110904004:118171006=430854000	2		
Citología de faringe (impronta)	110934009:118171006=430854000	2		
Citología de laringe (impronta)	110908001:118171006=430854000	2		
Citología de oído (impronta)	430241003:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de cabeza y cuello</b>	<b>Espécimen</b>			
PAAF de labio	433115004	3	5	
PAAF de boca	432607005	3	5	
PAAF de lengua	432985002	3	5	
PAAF de fosa nasal	433859006	3	5	
PAAF de senos nasales y paranasales	433861002	3	5	
PAAF de laringe	432865002	3	5	
PAAF de oído	434249007	3	5	
PAAF de glándulas salivales	434406008	3	5	
PAAF de glándula parótida	441695007	3	5	
PAAF de glándula submaxilar	441749007	3	5	
PAAF de glándula sublingual	441876003	3	5	
PAAF de lesión en cuello	431886004	3	5	
PAAF con control ecográfico de cuello	431886004:118171006=447853006	3	5	

	SNOMED CT	CATÁLOGO 2017		
		UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>CITOPATOLOGÍA DEL SISTEMA NERVIOSO</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología de líquidos o secreciones de sistema nervioso central</b>				
Citología de líquido cefalorraquídeo (LCR)	110969006	2		
<b>Citología impronta de sistema nervioso y muscular</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de cerebro (impronta)	119398007:118171006=430854000	2		
Citología de cerebelo (impronta)	443498007:118171006=430854000	2		
Citología de tronco de cerebro (impronta)	119398007:{118169006=1592600 1,118171006=430854000}	2		
Citología de hipófisis (impronta)	309154006:118171006=430854000	2		
Citología de glándula pineal (impronta)	443241002:118171006=430854000	2		
Citología de meninges (impronta)	430157009:118171006=430854000	2		
Citología de médula espinal (impronta)	430221008:118171006=430854000	2		
Citología de nervio (impronta)	430236006:118171006=430854000	2		
Citología de ganglio simpático o parasimpático (impronta)	433799002:118171006=430854000	2		
Biopsia de músculo esquelético (impronta)	110900008:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de sistema nervioso</b>	<b>Espécimen</b>			
PAAF de hipófisis	432983009	2		
PAAF de meninges	122550002:118169006=1231004	2		
<b>CITOPATOLOGÍA OFTÁLMICA</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados de ojo y órbita</b>				
Citología de conjuntiva	258498002	2		
Citología de párpado	433324003:{118169006=8024300 3,118171006=116147009}	2		
Citología de córnea	258485006	2		
<b>Citología impronta de ojo y órbita</b>				
Citología de globo ocular (impronta)	430117006:118171006=430854000			
<b>PAAF de órbita</b>				
PAAF de ojo	432981006	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA DE PARTES BLANDAS, ARTICULACIÓN Y HUESO</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología de líquidos o secreciones de partes blandas (incuye fascia), articulación y hueso</b>				
Citología líquido sinovial o articular	430312009	2		
Citología de líquido de bursa	258448003	2		

		CATÁLOGO 2017		
		SNOMED CT	UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo
<b>Citología impronta de partes blandas, articulación y hueso</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de partes blandas (impronta)	309072003:118171006=430854000	2		
Citología de articulación (impronta)	309125000:118171006=430854000	2		
Citología de tendón (impronta)	309107007:118171006=430854000	2		
Citología de hueso (impronta)	110901007:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de partes blandas, articulación y hueso</b>	<b>Espécimen</b>			
PAAF de partes blandas	441810001	3	5	
PAAF de articulación	432419006	3	5	
PAAF de hueso	431404007	3	5	
PAAF con control ecográfico de ingle	441810001:118171006=449202009	3	5	
PAAF tejido adiposo (e: subcutáneo para amiloide)	442649003	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA RESPIRATORIA Y CAVIDAD TORÁCICA</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados de vías respiratorias y cavidad torácica</b>	<b>110906002</b>	<b>3</b>		
Citología de tráquea	110920009	3		
Citología de cepillado bronquial	110912007	3		
<b>Citología de líquidos o secreciones de vías respiratorias y cavidad torácica</b>				
Citología de esputo	430310001	2		
Citología de aspirado bronquial (BAS)	441903006	2		
Citología de lavado bronquioalveolar (BAL)	122609004	2		
Citología líquida de broncoaspirado	430346005:118171006=287571005	2		
Citología de punción transtraqueal	258480001	3		
Citología de punción transbronquial	446299006	2		
Citología de líquido pleural	430408004	2		
<b>Citología impronta de vías respiratorias y cavidad torácica</b>				
Citología de pulmón (impronta)	309177006			
Citología de pleura (impronta)	110913002:118171006=430854000			
Citología de mediastino (impronta)	433326001:118171006=430854000			
Citología de timo (impronta)	396896007:118171006=430854000			

	SNOMED CT	CATÁLOGO 2017		
		UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>PAAF de vías respiratorias y cavidad torácica</b>				
PAAF de tráquea	431235004	3	8	
PAAF de bronquio	432140002	3	8	
PAAF de pulmón	122614000	3	5	
PAAF de pleura	122618002	3	5	
PAAF de mediastino	432144006	3	5	
PAAF de timo	396899000	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA CARDIOVASCULAR</b>				
<b>Espécimen</b>				
<b>Citología de líquidos o secreciones de sistema cardiovascular</b>				
Citología de líquido pericárdico	430379005	3		
<b>Citología impronta de sistema cardiovascular</b>				
Citología de arteria (impronta)	309479002:118171006=430854000	2		
Citología de vena (impronta)	309480004:118171006=430854000	2		
Citología de corazón (impronta)	116157005:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de sistema cardiovascular</b>				
PAAF de arteria	122550002:118169006=51114001	3	5	
PAAF de vena	122550002:118169006=29092000	3	5	
PAAF de corazón	122626005	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA UROLÓGICA</b>				
<b>Espécimen</b>				
<b>Citología exfoliativa, cepillados o raspados de aparato urinario y genital masculino</b>				
Citología de uréter	110960005	2		
Citología de uretra	110965000	2		
Citología de pene	110931001	2		
<b>Citología de líquidos o secreciones de aparato urinario y genital masculino</b>				
<b>Espécimen</b>				
Citología de orina espontánea	430318008	2		
Citología de orina instrumentalizada (catéter, lavado vesical)	447589008	2		
Citología de orina de uréter	444937002	2		
Citología de semen o líquido espermático	119347001	2		
Citología de epidídimo	110941003	2		
Citología de vesículas seminales	110937002	2		

		CATÁLOGO 2017		
	SNOMED CT	UCL sin presencia de patólogo	UCL con presencia de patólogo	BIOMOL
<b>Citología impronta de aparato urinario y genital masculino</b>				
Citología de vejiga (impronta)	110950001:118171006=430854000	2		
Citología de epidídimo (impronta)	110941003:118171006=430854000	2		
Citología de pene (impronta)	110931001:118171006=430854000	2		
Citología de próstata (impronta)	110933003:118171006=430854000	2		
Citología de vesícula seminal (impronta)	110937002:118171006=430854000	2		
Citología de cordón espermático (impronta)	430234009:118171006=430854000	2		
Citología de testículo (impronta)	110935005:118171006=430854000	2		
Citología de uréter (impronta)	110960005:118171006=430854000	2		
Citología de uretra (impronta)	110965000:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de urología</b>	<b>Espécimen</b>			
PAAF de vejiga	432099000	3	5	
PAAF de epidídimo	432980007	3	5	
PAAF de pene	432143000	3	5	
PAAF de próstata	441884004	3	5	
PAAF de vesícula seminal	432057001	3	5	
PAAF de cordón espermático	431696005	3	5	
PAAF de testículo	441710009	3	5	
PAAF de uréter	432420000	3	5	
PAAF de uretra	433120004	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA DE RIÑÓN</b>	<b>Espécimen</b>			
<b>Citología de líquidos o secreciones de riñón y pelvis renal</b>				
Citología de pelvis renal	110943000	2		
<b>Citología impronta de riñón</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de riñón (impronta)	110948009:118171006=430854000	2		
<b>PAAF de urología</b>	<b>Espécimen</b>			
PAAF de riñón	122671002	3	5	
<b>CITOPATOLOGÍA DE TOPOGRAFÍA DESCONOCIDA</b>	<b>Espécimen</b>			
Citología de topografía desconocida	430297000	3		
	<b>Espécimen</b>			
<b>PAAF de topografía desconocida</b>	<b>431888003</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	

### ANEXO 3: DISTRIBUCIÓN DE LA CARGA DE TRABAJO PARA PATOLOGÍA AUTÓPSICA

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

Catálogo de muestras de anatomía patológica codificado en SNOMED CT

Basado en SNOMED CT Internacional versión 2012-01-31 (FSN = Fully Specified Name). Actualizado el 25 de julio de 2012

#### AUTOPSIAS

AUTOPSIAS	SNOMED CT( Procedimiento)	CATÁLOGO 2017		
		MICRO UCL	MACRO UCL	TOTAL UCL
<b>Autopsias con estudio macroscópico y microscópico</b>				
Autopsia adulto completa (sin médula espinal)	56417000	50	50	100
Autopsia adulto limitada (sin SNC)	74348008	30	40	70
Autopsia adulto sólo SNC	74348008:363704007=21483005	20	10	30
Autopsia SNC biobanco	74348008+386409003	40	20	60
Autopsia parcial (tórax o abdomen)	74348008:{363704007=51185008, 363704007=113345001}	20	20	40
Autopsia feto (Desde 12 semanas hasta 22 semanas de gestación y/o 500 g)	16361008:363698007=367620005	10	15	25
Autopsia perinatal (Desde 22 semanas de gestación y/o 500 g hasta 28 días)	16361008	20	40	60
Autopsia postnatal (Desde 28 días de vida hasta 1 año de vida)	29240004:370131001=418119000	20	40	60
Autopsia pediátrica (Desde 1 año de vida hasta 14 años)	430339001	50	45	95







El Libro Blanco 2017 de la Anatomía Patológica en España  
se terminó de digitalizar en Gráficas Dosbi S.L.  
en Vitoria-Gasteiz el 15 de mayo

**SeAP-IAP**

Sociedad Española de Anatomía Patológica  
*International Academy of Pathology*