

Evaluación patológica del espécimen de cáncer de recto

Héctor Enríquez Blanco
Presidente

Asociación de cirujanos de colon y recto de Guatemala
Documento preliminar para consenso

Un tumor es clasificado como rectal si su margen inferior yace < de 16 cm del margen anal o si cualquier parte del tumor se localiza por lo menos parcialmente dentro de la vascularidad de la arteria rectal superior. La literatura moderna ha demostrado que para optimizar los cuidados del paciente con cáncer rectal requerimos de un manejo basado en una atención proporcionada por un equipo multidisciplinario, que incluya un cirujano colorrectal, un radiólogo, un patólogo, un gastroenterólogo, un radioterapeuta y un oncólogo entre otros. Es un pre-requisito que todos estos miembros sean expertos en el tema. Por su parte, el patólogo tiene el papel no solo de establecer el diagnóstico, sino de estadificar, clasificar la resección quirúrgica, definiendo variables pronósticas, determinando el efecto de la terapia neoadyuvante y quienes requerirán tratamientos adyuvantes posteriores

Papel del patólogo en el cáncer rectal

- Certeza del diagnóstico y estadificación del tumor y ganglios.
- Determinar las variables pronósticas.
- Analizar la calidad de la resección quirúrgica.
- Determinar el efecto de la terapia neoadyuvante en la pieza quirúrgica.
- Detectar hallazgos sugestivos de inestabilidad microsatelital.
- Seleccionar material apropiado para marcadores biomoleculares (KRAS, BRAF, MSI) e interpretar estas pruebas.

Evaluación macroscópica del espécimen

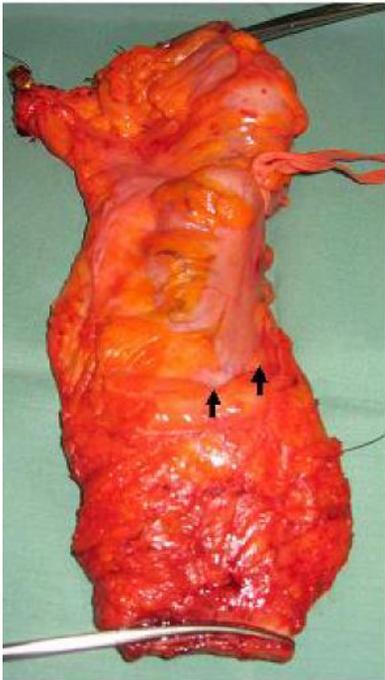
El patólogo debe evaluar la calidad de la resección quirúrgica, es decir definir qué tan completa fue la resección del tumor (la calidad de la escisión del mesorecto). Para ello la pieza quirúrgica debe examinarse en fresco, sin fijación y ser recibida sin abrirse. La evaluación inicial del espécimen consiste en inspección visual directa y foto-documentación. Ambas con el objetivo de clasificar el plano de resección (fascia propia, intramesorectal o intramuscular) (tabla No. 2). Debe establecerse si se trata de una escisión total o parcial de mesorecto o una resección abdomino perineal (APR). Debe incluirse la relación del tumor con la superficie serosa, es decir si se encuentra arriba, a nivel o por debajo de la reflexión peritoneal y verificar la presencia de obstrucción o de perforación (tumoral o lejos del tumor) (Tabla No. 1)

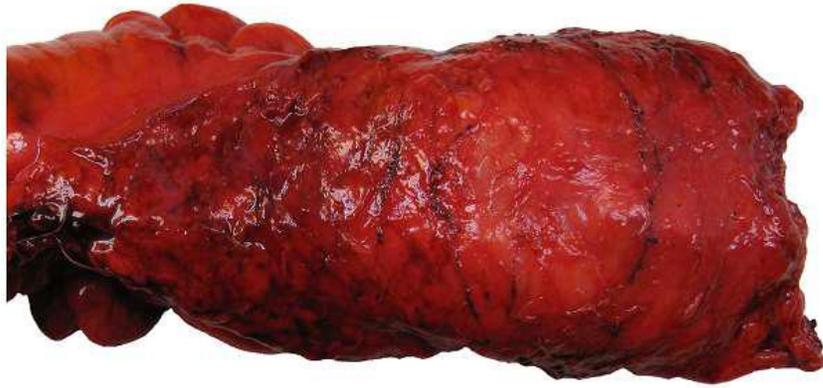
Clasificación de la calidad de resección

Tabla No. 1

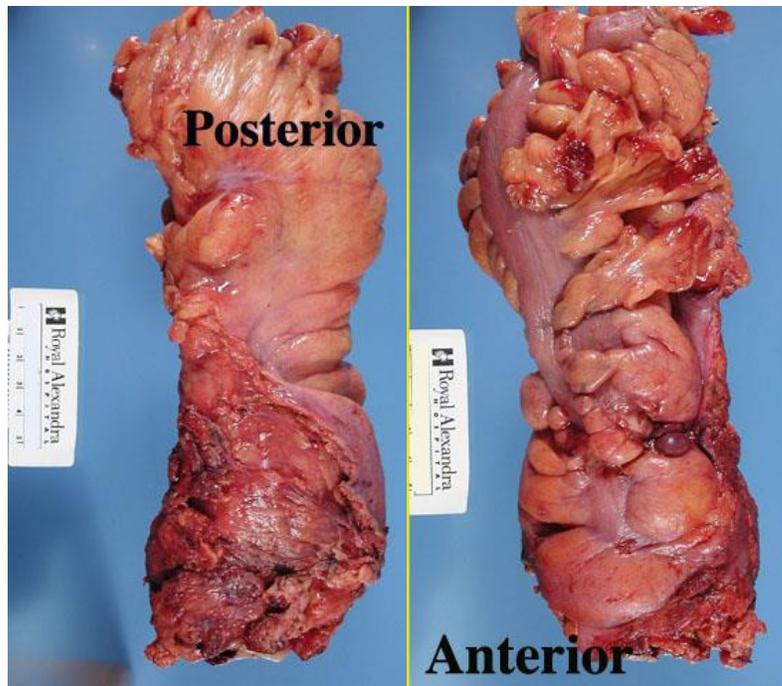
Clasificación	Mesorecto	Defecto	Conificación	Margen circunferencial
TNM III Plano de fascia propia o mesorectal	Intacto, liso	< 5 mm	No	Liso y regular.
TNM II Plano intramesorectal	Irregular y abultado	No visible muscularis propia	Moderada	Irregular
TNM I Plano intramuscular	Poco abultamiento	Llega a la muscularis propia	Prominente	Irregular.

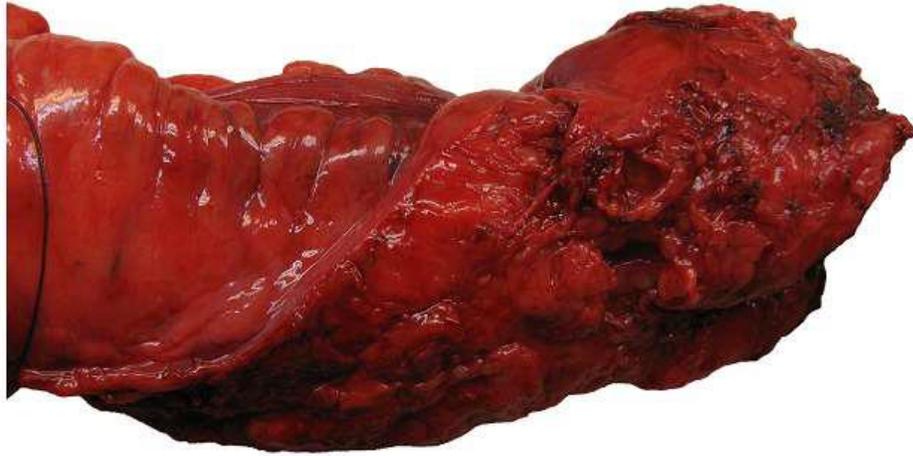
Escisión total de mesorecto Plano de la fascia propia



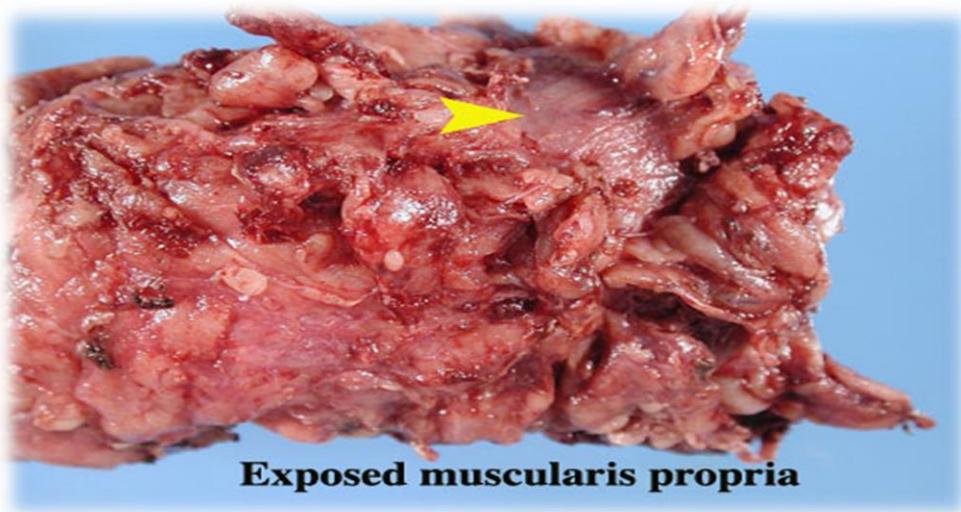


**Escisión total de mesorecto
Plano intra-mesorectal**

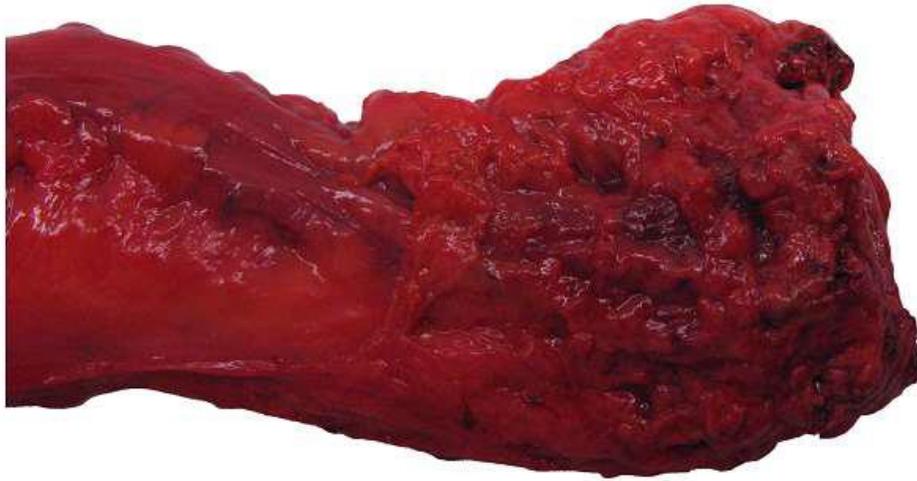




**Escisión total de mesorecto
Plano intramuscular**



Exposed muscularis propria



La calidad del mesorecto resecado es el factor más importante de recurrencia local en pacientes con un margen circunferencial negativo

Respecto a la pieza de resección abdominoperineal, esta se clasifica según el plano de resección en a)Extralevador o cilíndrica (ELAPE) b)Plano del complejo esfinteriano y c) intramuscular propia y debe incluir la distancia del tumor al margen anal y línea dentada. En el plano quirúrgico extralevador, la disección se realizó por fuera al elevador del ano, el cual se ha removido en bloque con el mesorecto y conducto anal (a). En el plano esfinterico, el espécimen no contiene los elevadores, el margen circunferencial lo conforma el esfínter por lo que tiene cierta cintura o cono (b). En el plano interesfinterico, el cirujano entro inadvertidamente dentro del esfínter, se incluye aquí cualquier tipo de perforación por debajo de la reflexión peritoneal (c).

Resección abdominoperineal

Plano extralevador (a), Plano esfinterico (b) y plano intramuscular (c)



a.



b.



c.

Se procede a medir la longitud del espécimen y del tamaño tumoral, entintar la porción extraperitoneal, sin incluir la porción que tiene serosa. Se abre el espécimen en la parte anterior empezando desde la región proximal del intestino, sin llegar al tumor (2 cm por arriba y abajo). Posteriormente se mide la distancia del tumor al margen distal, coloca una gasa dentro del tumor y deja el espécimen 48 a 72 horas dentro de formol para que se fije adecuadamente extendiendo la pieza con pines, para evitar que el tejido se retraiga. Es prudente recordar que 5 cm de longitud del colon en vivo equivale a 3 cm después de resección y 2.2 cm después de la fijación. Para la adecuada fijación y procesamiento de la pieza debe utilizarse formol buferado con pH neutro diluido al 10%, situación que debe ser confirmada y corregida por el patólogo desde el inicio.

La porción no abierta del espécimen fijado en formalina se corta transversalmente en secciones de 3 a 5 mm y se numeran ascendentemente desde la región proximal a distal. Posteriormente se procede a una inspección macroscópica de los cortes para a) anotar la distancia más cerca del tumor al margen circunferencial b) encontrar cualquier nódulo positivo y medir la distancia del nódulo al margen circunferencial y c) anotar si la distancia más corta del tumor al margen circunferencial es anterior, posterior o lateral izquierda o derecha.

Entintado, apertura parcial anterior y secciones transversales después de fijación



En la búsqueda de ganglios debe disecarse toda la grasa fuera del tumor, incluir y cuantificar todos aquellos que sean sugestivos para análisis histopatológico. Es necesario realizar un mínimo de tres bloques del tumor demostrando el margen circunferencial más cercano, asegurándose no contar dos veces cada ganglio y obtener secciones a estudio del margen distal y proximal para análisis histopatológico, a menos que este esté a más de 3 cm de distancia. Debe identificarse la presencia de perforación tumoral y esta se clasificará como un pT4

Examen histológico

Se utiliza la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (Imagen No.3) y se gradifica en 4 grados de diferenciación (bien diferenciado, moderadamente diferenciado, pobremente diferenciado o indiferenciado)

Clasificación OMS

- Adenocarcinoma.
- Adenocarcinoma Mucinoso.
- Adenocarcinoma en anillo de sello.
- Carcinoma de células pequeñas.
- Carcinoma Adenoescamoso.
- Carcinoma Medular.
- Carcinoma Indiferenciado.

Alternativamente se podría utilizar una escala de 2 grados, de acuerdo al Colegio Americano de Patólogos, quienes consideran de alto grado cuando existe menos de 50% de estructuras glandulares (carcinomas pobremente diferenciados e indiferenciados) o bajo grado (cuando existan > 50%, bien diferenciados o moderadamente diferenciados).

Debe determinarse la estructura anatómica o el punto de mayor profundidad de invasión, para clasificar el tumor T (submucosa, muscularis propia, tejido mesorectal (grasa perirectal) o serosa.

Después de establecer el tipo de tumor y el grado de diferenciación histológica, es necesario evaluar la presencia de invasión linfo-vascular, incluyendo la invasión venosa intra o extramural (es decir por fuera de la muscularis propia), la presencia de invasión perineural, de depósitos tumorales (extensión extramural discontinua), la invasión a estructuras serosas o peritoneo (pT4a) u órganos vecinos (pT4b) siguiendo la clasificación TNM7, porque todos ellos tienen significado pronóstico. Los tumores que son adherentes a otros órganos o estructuras macroscópicamente se clasifican como T4, sin embargo si el tumor no se encuentra dentro de la adhesión microscópicamente, el tumor realmente es un pT3. La invasión al esfínter externo se clasifica como T3, sin embargo la invasión al elevador del ano es pT4.

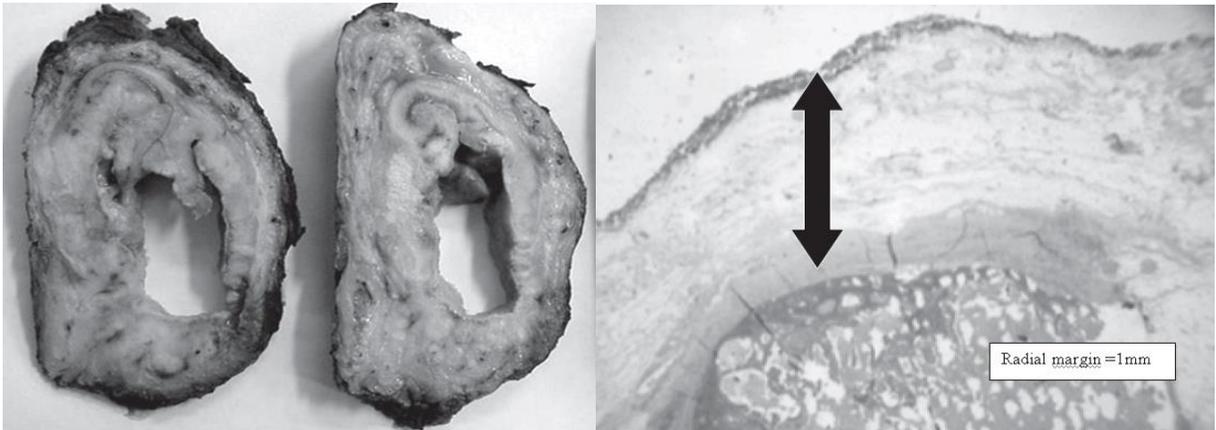
Los depósitos tumorales o extensiones discontinuas extratumorales son agregados focales de adenocarcinoma localizados en la grasa perirectal o pericolónica, es decir depósitos en el mesenterio sin que exista un ganglio linfático reconocido y que no tienen continuidad con el tumor primario. Estos depósitos tumorales se asocian a menor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general por ello debiera incluirse en el reporte de patología el número de depósitos tumorales. Muchos de estos representan invasión venosa, linfática o de las vainas nerviosas y son considerados una verdadera metástasis linfática si son > 3 mm (TNM5) o tienen contornos redondos y lisos (TNM6) o se asocian a invasión venosa cuando son < 3 mm (TNM5) o tienen una superficie irregular (TNM6). En la nueva clasificación TNM7 son considerados pN1c en ausencia de metástasis ganglionar.

Respecto a la invasión vascular, se contemplan dos elementos; la invasión vascular (usualmente venosa) y la invasión de los vasos linfáticos. La invasión venosa se asocia a metástasis visceral y la invasión de los vasos linfáticos a metástasis ganglionar.

Margen circunferencial

- La evaluación del margen circunferencial en el espécimen de resección total de mesorecto es el predictor más significativo de recurrencia local (3.5 veces mayor recurrencia cuando es positivo)
- Se considera positivo el margen circunferencial cuando existe extensión tumoral directa continua o discontinua o presencia de un ganglio linfático positivo a < o 1 mm del borde del tejido extraperitoneal entintado. Es decir es el margen radial más cercano entre la penetración más profunda del tumor o ganglio linfático al borde de tejidos blandos resecados alrededor del recto
- Se prefiere un margen circunferencial > 2 mm (> 1 mm se considera negativo)

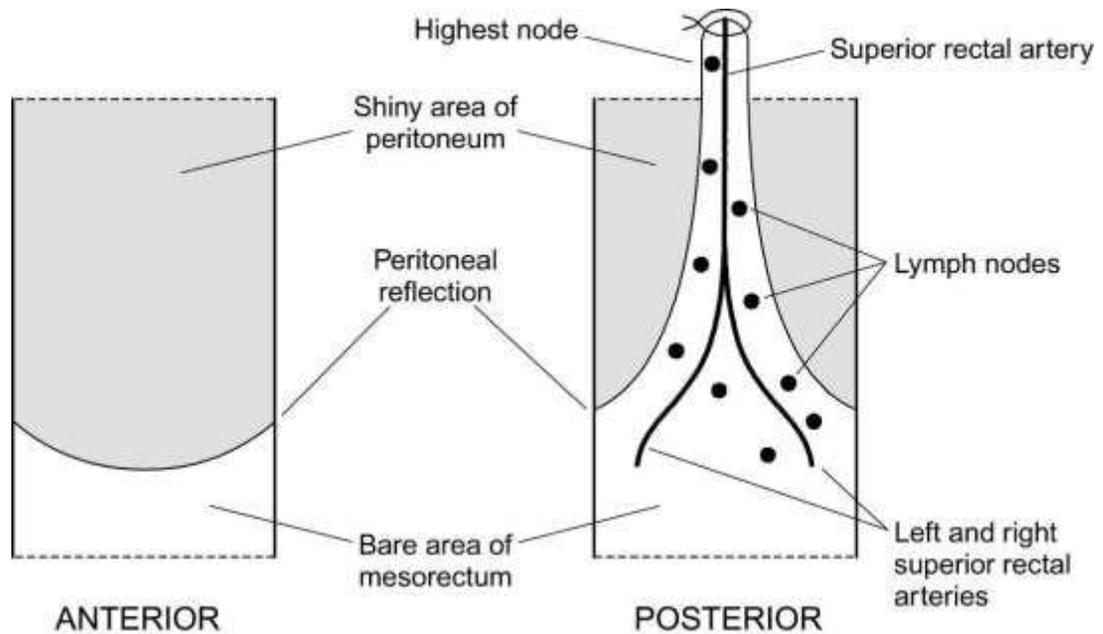
Márgenes circunferenciales



Ganglios

La inspección visual de rutina, palpación y disección continúan siendo el estándar de la práctica para la captura y recuperación de los nódulos linfáticos, junto al ímpetu y dedicación del patólogo. La identificación de los ganglios debe comenzarse en el ganglio apical o el más alto. Después se evalúa el mesenterio adherido a los cortes transversales, pero debe tenerse cuidado que todo el mesenterio entre el tumor y el ganglio más alto serán incluidos para análisis histopatológico. Para clasificar apropiadamente al paciente como **No** se requiere la recuperación y captura al menos de 12 ganglios negativos. Debe incluirse el número de ganglios linfáticos positivos y el total de examinados. En el caso de que se detecten menos de 12 ganglios debe regresarse a disecar la pieza para obtener más ganglios. Los nódulos a lo largo de cadenas linfáticas perirectales del mesorecto, de la arteria rectal media e inferior se incluyen dentro de la pieza y de acuerdo al número se clasifican en N1 o N2 (> 3); sin embargo, cuando están positivos los ganglios iliacos externos o iliacos comunes se consideran metástasis

Puntos anatómicos importantes en la pieza repliegue peritoneal anterior y posterior y zona ganglionar



- Técnicas especiales

Se han establecido algunas técnicas especiales para mejorar la búsqueda de ganglios incluyendo aclaramiento de grasas, fijación del tejido graso con alcohol absoluto, aclaramiento de xileno, aclaramiento con aceite de cedro. El colegio americano de patólogos recomienda usar estas técnicas cuando se encuentran menos de 12 nódulos con las técnicas tradicionales. Al momento existe evidencia científica insuficiente para recomendar técnicas de microdissección, aclaramiento de grasa, inyección intra-arterial de azul de metileno para detectar mayor número de ganglios linfáticos. Sin embargo estos criterios continúan en evolución. Se menciona que la primera técnica que se utilizó fue la de Gilchrist y se basaba en la inmersión del mesorecto en concentraciones elevadas de alcohol y xileno seguidas de metil-salicilato, esta tenía el inconveniente que requería 6 días y significativamente incrementaba el número de ganglios detectados. Por su parte la técnica de visualización mejorada utilizando la solución de Schwartz emplea 24 horas, así como la inmersión en alcohol absoluto.

Hallazgos sugestivos de inestabilidad microsatelital en el análisis H-E

Es importante determinar si existen hallazgos sugestivos de inestabilidad microsatelital porque se relacionan con la presencia de cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis (síndrome de Lynch) o adenocarcinomas asociados a la vía aserrada. También sirven como un marcador pronóstico del paciente y de la respuesta a la quimioterapia, es decir determina que pacientes no se benefician con 5-FU como agente adyuvante, predice un mejor pronóstico y es pieza clave para el inicio de la búsqueda del gen responsable de los casos hereditarios (Imagen No.)

Hallazgos histológicos sugestivos de inestabilidad microsatelital

- Infiltración linfocítica intratumoral (>5LIE x HPF).
- Infiltración linfocitaria extratumoral en el estroma o nódulos linfoides prominentes en la región del borde tumoral o adyacente a la muscularis propia sugestivo de Crohn.
- Carcinoma medular.
- Carcinoma en anillos de sello.
- Carcinoma mucinoso (asociado a MSI tiene mejor pronóstico que el MSI estable).

Respuesta postneoadyuvancia

Los tumores rectales que han tenido tratamiento neoadyuvante pueden tener regresión al punto de no encontrarse tumor residual; en dichos casos debe tomarse de primera instancia al menos 5 bloques del tumor primario. Después de examinar microscópicamente los cortes sino se encuentra tumor residual se incluye todo el área tumoral y cicatriz residual. Si no se encontrara tumor, deben cortarse tres niveles en cada bloque, para finalmente definirlo como **Respuesta patológica completa** sino se encontrara residuos de células neoplásicas o solo algunos lagos de mucina acelulares.

Existen diferentes escalas que evalúan la respuesta al tratamiento neoadyuvante después de quimio y radioterapia incluyendo la escala de regresión de Dworak de 5 parámetros o la de Ryan de tres. Pero antes de concluir que existe una respuesta completa sin identificación tumoral se requiere hacer niveles de los bloques iniciales.

Escalas de regresión tumoral después de tratamiento neoadyuvante

Dworak 1997

GR 0 No regresión tumoral.

GR 1 Masa tumoral dominante con fibrosis y/o vasculopatía.

GR 2 Cambios fibróticos dominantes con pocas células tumorales fáciles de Detectar (regresión tumoral < 50%).

GR 3 Muy pocas células tumorales microscópicamente en tejido fibrótico con o sin moco.(regresión tumoral > 50%)

GR 4 regresión tumoral completa

Rectal Cancer Regression Grading (RCRG) system

RCRG 1 Respuesta completa o pequeños focos microscópicos de cáncer remanente y fibrosis marcada

RCRG 2 Fibrosis moderada junto a enfermedad macroscópica.

RCRG 3 Abundante enfermedad macroscópica y poca fibrosis

Escalas de regresión tumoral después de quimioradioterapia neoadyuvante Ryan 2005

- 0 respuesta completa ~ no células cancerosas viables.
- 1 respuesta moderada – escasas células cancerosas.
- 2 respuesta mínima ~ cancer residual y fibrosis.
- 3 Respuesta nula – regresión nula o mínima y cancer residual extenso

Ryan R, Gibbons D, Hyland JM, et al. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Histopathology*. 2005;47:141-146.

Es importante recordar que la regresión tumoral se refiere únicamente al tumor primario, no debe incluirse la metástasis ganglionar en la evaluación.

Finalmente debe establecerse la extensión de la resección tumoral de la siguiente manera

- R0 resección tumoral completa con todos los márgenes negativos
- R1 resección tumoral incompleta con afectación microscópica de márgenes
- R2 resección tumoral incompleta con tumor residual macroscópico no resecado

Para definir R0 se requiere incluir todos los márgenes de la pieza, incluyendo márgenes circunferenciales, distales o proximales y las donas del engrapado.

Pruebas especiales de inmunohistoquímica

- a. Pruebas de inestabilidad microsatelital. Están indicadas cuando existen hallazgos histológicos sugestivos en H-E, en tumores sincrónicos, pacientes jóvenes < 50 años, coexistencia de otros cánceres asociados a cáncer de colon y especialmente en tumores del colon derecho (MLH1, MLH2, MSH6 y PMS2).
- b. Prueba de KRAS y NRAS: en enfermedad metastática
- c. Prueba de BRAF: en tumores con inestabilidad microsatelital asociado a la pérdida de la proteína MLH-1 y tumores metastásicos negativos para mutaciones en el KRAS.

Bibliografía

1. Abbassi-Ghadi N, Boshier PR, Goldin R, Hanna GB. Techniques to increase lymph node harvest from gastrointestinal cancer specimens: a systematic review and meta-analysis. *Histopathology*. 2012;61:531–542..
2. Adam IJ, Mohamdee MO, Martin IG, Scott N, Finan PJ, Johnston D et al. Role of circumferential margin involvement in the local recurrence of rectal cancer. *Lancet* 1994; 344:707–711.
3. Cawthorn SJ, Gibbs NM, Marks CG. Clearance technique for the detection of lymph nodes in colorectal cancer. *Br J Surg* 1986;73:58–60.
4. College of American Pathologists. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. www.cap.org/cancerprotocols. College of American Pathologists, October 2013 (accessed 02 may 2015)
5. Crucitti F, Doglietto GB, Bellantone R, et al. Accurate specimen preparation is mandatory to detect lymph nodes and avoid understaging in colorectal cancer. *J Surg Oncol* 1992;51:153–8.
6. Dworak O, Keilholz L, Hoffmann A. Pathological features of rectal cancer after preoperative radiochemotherapy. *Int J Colorectal Dis* 1997; 12: 19-23
7. Frasson M, Faus C, García-Granero A, Puga R, Flor-Lorente B, Cervantes A et al. Pathological evaluation of mesocolic resection quality and ex vivo methylene blue injection: what is the impact on lymph node harvest after colon resection for cancer? *Dis Colon Rectum* 2012;55:197–204.
8. García-Granero E, Faiz O, Munoz E, Flor B, Navarro S, Faus C et al. Macroscopic assessment of mesorectal excision in rectal cancer: a useful tool for improving quality control in a multidisciplinary team. *Cancer* 2009;115:3400–3411.
9. Heald RJ, Husband EM, Ryall RD. The mesorectum in rectal cancer surgery—the clue to pelvic recurrence? *Br J Surg*. 1982;69 (10):613–6.
10. Heald RJ, Ryall RD. Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. *Lancet*. 1986;1(8496):1479–82.
11. Hernanz F, García-Somacarrera E, Fernández F. The assessment of lymph nodes missed in mesenteric tissue after standard dissection of colorectal cancer specimens. *Colorectal Dis*. 2010;12(7 online):e57–e60.
12. Koren R, Siegal A, Klein B, et al. Lymph node-revealing solution: simple new method for detecting minute lymph nodes in colon carcinoma. *Dis Colon Rectum* 1997;40:407–10.
13. Leonard D, Penninckx F, Fieuws S, et al. Factors predicting the quality of total mesorectal excision for rectal cancer. *Ann Surg*. 2010;252(6):982–8.
14. Nagtegaal ID, van de Velde CJ, van der Worp E, Kapiteijn E, Quirke P, van Krieken JH et al. Macroscopic evaluation of rectal cancer resection specimen: clinical significance of the pathologist in quality control. *J Clin Oncol* 2002;20:1729–1734
15. Nagtegaal ID, Van Krieken JH. The role of pathologists in the quality control of diagnosis and treatment of rectal cancer-an overview. *Eur J Cancer* 2002;38:964-72.
16. Parfitt JR, Driman DK. The total mesorectal excision specimen for rectal cancer. A review of its pathological assessment. *J Clin Pathol* 2007;60:849-55.
17. Poston G, Adam R, Vauthey JN. Downstaging or downsizing: time for a new staging system in advanced colorectal cancer? *J Clin Oncol*. 2006;24(18): 2702–2706.
18. Quirke P, Durdey P, Dixon MF and Williams NS (1986). Local recurrence of rectal adenocarcinoma due to inadequate surgical resection. Histopathological study of lateral tumour spread and surgical excision. *Lancet* 2(8514):996–999.

19. Quirke P, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, Couture J et al. Effect of the plane of surgery achieved on local recurrence in patients with operable rectal cancer: a prospective study using data from the MRC CR07 and NCIC–CTG CO16 randomised clinical trial. *Lancet* 2009;373:821–828
20. Quirke P. The pathologist, the surgeon and colorectal cancer: get it right because it matters. *Prog Pathol* 1998;4:201–13.
21. Ryan R, Gibbons D and Hyland JMP (2005). Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Histopathology*(47):141-146.
22. Shia J, Ellis NA, Paty PB, et al. Value of histopathology in predicting microsatellite instability in hereditary nonpolyposis colorectal cancer and sporadic colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2003;27(11):1407–1417
23. Stocchi L, Fazio VW, Lavery I, Hammel J. Individual surgeon, pathologist, and other factors affecting lymph node harvest in stage II colon carcinoma: is a minimum of 12 examined lymph nodes sufficient? *Ann Surg Oncol*. 2011;18:405–412.
24. Tepper J, O’Connell M, Niedzwiecki D, et al. Impact of number of nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:157–63.

PREGUNTAS PARA ACORDAR RESPONDER

1. **¿Cuál clasificación histológica y diferenciación se va a seguir?**
2. **¿Qué clasificación TNM va a seguirse?**
3. **¿Qué técnicas histopatológicas utilizar cuando la pieza tenga menos de 12 ganglios?**
4. **¿Cuándo está indicado técnicas de aclaramiento de grasa?**
5. **¿Cuándo es necesario utilizar tinciones especiales de elastina para detectar invasión venosa?**
6. **¿Cómo se define desde el punto de vista operacional respuesta patológica completa?**
7. **¿Cuál escala de regresión tumoral se va a seguir?**
8. **¿Qué parámetros de calidad del manejo de la pieza de cáncer rectal se van a seguir como estándar del patólogo?**
9. **¿Cuándo se van a indicar pruebas de inestabilidad microsatelital?**
10. **¿Cuándo se va a realizar pruebas especiales de inmunohistoquímica de KRAS y BRAF?**